

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

**Formulación de hidrogeles a partir de quitosano-almidón oxidado
mediante reacciones de nitrosación**

Britney Paulina Vega Bonilla

Ingeniería Química

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
INGENIERA QUÍMICA

Quito, 10 de diciembre de 2024

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

**Formulación de hidrogeles a partir de quitosano-almidón oxidado
mediante reacciones de nitrosación**

Britney Paulina Vega Bonilla

Nombre del profesor, Título académico

José Mora, PhD

Nombre del profesor, Título académico

José F. Álvarez B., PhD

Quito, 10 de diciembre de 2024

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Britney Paulina Vega Bonilla

Código: 00212497

Cédula de identidad: 1003265194

Lugar y fecha: Quito, 10 de diciembre de 2024

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

En la actualidad, los hidrogeles se han destacado en el área de investigación científica, por su gran capacidad para absorber y retener grandes cantidades de agua debido a su estructura tridimensionalmente reticulada. Es así como desde el año 1960 los hidrogeles se han introducido en aplicaciones como la ingeniería de tejidos, así como para la encapsulación y liberación de fármacos. De esta manera el objetivo del presente proyecto es formular hidrogeles a partir de polímeros naturales como el quitosano y almidón para la liberación de acetaminofén. La metodología se divide en 4 etapas. Inicia con reacciones de nitrosación, usando un agente nitrosante, nitrito de sodio ($NaNO_2$) a concentraciones de 0.1 M y 0.5 M; y quitosano en dos medios, ácido acético (CH_3COOH) y ácido clorhídrico (HCl). Seguido se prepara una solución de quitosano en ácido acético al 2% p/v. A continuación, una solución al 10% p/v de almidón oxidado en un reactor de síntesis de alta presión a condiciones de 140 °C por 0.5h, por la presencia de mayor grupos carbonilos y carboxilos. Finalmente, se realiza la formación del hidrogel por medio de precipitación y secado. El hidrogel que presentó mayor hinchamiento corresponde a la solución nitrosada con 0.5M de $NaNO_2$, en medio de ácido clorhídrico (HCL) y almidón oxidado, con el cual se realizó la liberación del acetaminofén observándose una liberación que mejor se ajusta a una controlada y sostenida cuando la relación de ambos polímeros es 1:1.

Palabras clave: hidrogel, nitrosación, nitrito de sodio, quitosano, almidón.

ABSTRACT

Nowadays, hydrogels have stood out in scientific research due to their great capacity to absorb and retain large amounts of water due to their three-dimensional cross-linked structure. Thus, since 1960, hydrogels have been introduced in applications such as tissue engineering and the encapsulation and release of drugs. The present project aims to formulate hydrogels from natural polymers such as chitosan and starch to release acetaminophen. The methodology is divided into four stages. It starts with nitrosation reactions, using a nitrosating agent, sodium nitrite (NaNO_2), at concentrations of 0.1 M and 0.5 M, and chitosan in two media, acetic acid (CH_3COOH) and hydrochloric acid (HCl). Next, a 2% w/v solution of chitosan in acetic acid is prepared. Then, a 10% w/v solution of oxidized starch is prepared in a high-pressure synthesis reactor at 140 °C for 0.5h to ensure the presence of higher carbonyl and carboxyl groups. Finally, hydrogel formation occurs through a process of precipitation followed by drying. The hydrogel that exhibited the highest swelling was derived from a nitrosated solution containing 0.5M NaNO_2 in hydrochloric acid (HCl) and oxidized starch. This hydrogel was used to release acetaminophen, which showed a pattern that was more consistent with controlled and sustained release when the ratio of both polymers was 1:1.

Keywords: hydrogel, nitrosation, sodium nitrite, chitosan, starch.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	11
2. JUSTIFICACIÓN	14
3. OBJETIVOS.....	15
3.1. Objetivo General.....	15
3.2. Objetivos Específicos	15
4. METODOLOGÍA.....	16
4.1. Preparación de la solución nitrosada	16
4.2. Preparación del almidón oxidado.....	16
4.3. Preparación de la solución de ácido acético	17
4.4. Formación del hidrogel.....	17
4.5. Lavado y secado	18
4.6. Evaluación de hinchamiento	18
4.7. Encapsulación del acetaminofén.....	18
4.8. Liberación del acetaminofén.....	19
4.9 Análisis.....	20
4.9.1. FTIR.....	20
4.9.2. Estadístico.....	20
5. RESULTADOS Y DISCUSIONES	21
5.1. Formulación de la solución entrecruzante.....	21
5.2. Efecto del nitrito de sodio en el hinchamiento de los hidrogeles	23
5.3. Análisis de hinchamiento a diferentes relaciones poliméricas.....	25
5.4. Análisis de la liberación del acetaminofén.....	27
5.4.1. FTIR.....	29

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	36
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
ANEXO A: CURVA DE CALIBRACIÓN.....	39
ANEXO B: CONTROL QUITOSANO EN <i>H2O</i>	40
ANEXO C: FTIR DE HIDROGELES CON DIFERENTES COMPOSICIONES QUITOSANO-ALMIDÓN.....	41
ANEXO D: ANÁLISIS ANOVA Y TUKEY (CONCENTRACIÓN, TIEMPO Y MEDIO)	42
ANEXO E: ANÁLISIS ANOVA Y TUKEY (RELACIONES QUITOSANO-ALMIDÓN)	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Quitosano en diferentes medios y concentraciones de nitrito de sodio.....	16
Tabla 2. Matriz de operación ´para los hidrogeles.....	17
Tabla 3. Relaciones porcentuales de polímeros en los hidrogeles.....	25

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reacción de nitrosación.....	21
Figura 2. Espectro FTIR para la solución nitrosada en HCl.	22
Figura 3. Espectro FTIR para la solución nitrosada en Ácido Acético.	22
Figura 4. Prueba de estabilidad (hinchamiento) con $NaNO_2$ 0.1M.	24
Figura 5. Prueba de estabilidad (hinchamiento).....	24
Figura 6. Prueba de estabilidad (hinchamiento) con $NaNO_2$ 0.1M. Prueba de estabilidad (hinchamiento) de los hidrogeles con diferentes relaciones.....	26
Figura 7. Liberación del acetaminofén para todos los hidrogeles con distintas relaciones.	28
Figura 8. Espectro FTIR de los controles	30
Figura 9. Espectro FTIR para cada diferente composición de quitosano-almidón.....	31
Figura 10. Espectro FTIR para el hidrogel con 100% quitosano y su control.....	32
Figura 11. Espectro FTIR para el hidrogel con 83% quitosano y su control.....	32
Figura 12. Espectro FTIR para el hidrogel con 50% quitosano y su control.....	34
Figura 13. Espectro FTIR para el hidrogel con 83% almidón y su control.	34

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los hidrogeles se han destacado en el área de investigación científica por su capacidad para la absorción y retención de agua. Estos materiales tridimensionales poseen una estructura reticulada, la cual no les permite disolverse con facilidad. Es así que, desde la década de 1960, los hidrogeles han evolucionado hasta introducirse en aplicaciones biomédicas. Estas son la ingeniería de tejidos e incluso la liberación controlada de fármacos, gracias a su biocompatibilidad [1] .

Los hidrogeles o también conocidos como geles hidrofílicos, son redes poliméricas formadas a partir de la reacción de uno o más monómeros. Su capacidad de hinchamiento surge de grupos funcionales hidrófilos que se unen a la estructura polimérica, mientras que la resistencia a la disolución se debe a los enlaces cruzados entre las cadenas de la red. Es así que existen dos tipos de hidrogeles, naturales y sintéticos [2].

La característica principal de los hidrogeles naturales es que son biodegradables y tienen una biocompatibilidad muy alta, por lo que no se evidencia toxicidad. Estos se elaboran a partir de polímeros naturales como alginato, quitosano, albúmina, colágeno, entre otros; y poseen una ventaja económica, por sus costos reducidos.

Mientras que los hidrogeles sintéticos se caracterizan porque sus propiedades mecánicas pueden ser ajustadas a rangos específicos. Sin embargo, su uso puede limitar algunas aplicaciones sostenibles o biomédicas por el uso de polímeros sintéticos como poli(met)acrilatos, polietilenglicoles, poli(vinilalcoholes), poli(vinilpirrolidonas), PLGA y poli(uretanos). En ambos tipos se puede realizar modificaciones químicas para inducir propiedades y mejorar la estabilidad de los hidrogeles, como resistencia, rigidez, porosidad, elasticidad y propiedades de control de fármacos [3]

Estos materiales poliméricos a pesar de tener varias aplicaciones destacan en la biomedicina por su capacidad para encapsular dentro de capas y liberar fármacos de manera controlada en el organismo. Es así como a través de modificaciones en la composición del hidrogel se puede mejorar este proceso para evitar reacciones tóxicas. A partir de ello se evita una degradación prematura o invasiva con efectos secundarios contra tejidos no deseados [4].

Ahora, de acuerdo con la investigación de Coello se han reportado hidrogeles obtenidos de polisacáridos naturales a partir de tratamientos hidrotérmicos. En dicho protocolo se funcionaliza el quitosano, se somete al almidón de yuca a una temperatura de 140 °C por 0.5 h, y se genera el entrecruzamiento. Los resultados de las pruebas de caracterización arrojaron que bajo dichas condiciones el hidrogel posee mayor estabilidad, logrando una liberación del 80% del fármaco empleado que en dicho caso fue acetaminofén [5].

Ahora, otro de los métodos de obtención de hidrogeles es a partir del uso de ácido succínico esterificado como agente entrecruzante a partir de polímeros naturales, pectina y quitosano. De acuerdo al protocolo de Quimbiamba, cuando los polímeros con ácido succínico se someten a irradiación UV, se evidencia el aumento del grado de entrecruzamiento, en contraste a los que no se expusieron a luz UV. En este caso, se logró una liberación de acetaminofén superior al 60% [6].

Todavía no se ha reportado en la literatura el uso de la nitrosación como posible formación de agente entrecruzante para los biopolímeros. Es así como la presente investigación se enfoca en emplear el nitrito de sodio como agente entrecruzante para la obtención de hidrogeles de quitosano y almidón oxidado, destinados para la liberación de acetaminofén.

Dentro de este contexto, la nitrosación es una reacción química en donde en una amina primaria ($-NO_2$), se introduce un grupo nitroso ($-NO$). Esto sucede en un medio ácido y el grupo amino se convierte en un grupo diazonio ($-N_2^+$).

El mecanismo de la reacción inicia con la nitrosación de la amina. Es aquí en donde en la amina primaria del quitosano se introduce un grupo nitroso (-NO), proveniente del nitrito de sodio ($NaNO_2$) y se encuentran en un medio ácido (H^+). Lo que sucede es que el $NaNO_2$ al reaccionar en medio ácido produce el ion nitrosonio (NO^+). Ahora, dicho ion ataca el nitrógeno de la amina primaria (RNH_2) dando lugar a un intermedio N- nitroso el cual es altamente reactivo y tiende a descomponerse. En este compuesto se forma un enlace N=O, el cual sigue reaccionando ya que no se puede aislar. Es así como en medio acuoso, el intermedio sufre una protonación por parte del agua (H_2O), se introduce un protón al oxígeno del grupo nitroso y se forma el ion oxonio (H_3O^+). Posteriormente, sigue reaccionando y se tiene un compuesto protonado en el oxígeno. Seguido, se pierde una molécula de agua, el compuesto se transforma en un ion alquildiazonio ($R - N^+ \equiv N:$) que tras la migración de enlaces el nitrógeno central adopta una estructura con triple enlace y se dice que la amina se ha diazoadado [7].

Es así como para la formación del hidrogel se realiza el entrecruzamiento con el almidón y quitosano, polímeros naturales que contienen varios grupos hidroxilo (-OH) en su estructura y actúan como nucleófilos. Este grupo reacciona con el ion diazonio formando enlaces cruzados entre el polímero y el compuesto nitrosado.

Si bien es cierto hay una importancia en cómo se libera, existe un fármaco modelo con el cual resulta sencillo trabajar. El acetaminofén es uno de los fármacos antipiréticos, analgésicos y antiinflamatorios no esteroides, más empleados a nivel mundial. Pertenece a la clase de los analgésicos de anilina y según los estudios los hidrogeles de quitosano resultaron ser eficaces en la liberación prolongada. Esto permite que el fármaco sea liberado de manera gradual, y controlada dentro del organismo, lo que podría reducir la frecuencia de dosis. La dosis diaria recomendada de paracetamol es de 4000 mg, por lo que las presentaciones comerciales son de 500 mg a 1000 mg con se administra cada 4 a 6 horas [8].

2. JUSTIFICACIÓN

El presente proyecto se justifica con la necesidad de optimizar el tiempo de formación del hidrogel. Esto considerando que en previas investigaciones o proyectos de investigación de tesis se ha reportado que la formación de los hidrogeles requiere de un tiempo extenso de reacción, 4 a 6 horas únicamente para su formación [5]. Esto se traduce en una demanda energética por el requerimiento de más operaciones del proceso. Significa que se tienen altos costos operativos, pues el mantener una reacción en condiciones prolongadas, implica un gasto significativo de recurso energético [9]. Es así como la implementación de la nitrosación como un método alternativo, permite el entrecruzamiento de polímeros en un tiempo reducido de 2 a 3 horas, optimizando el proceso de forma más sostenible y eficiente.

De la misma manera, se justifica con la necesidad de mejorar las formulaciones farmacéuticas para la disminución del consumo de dosis, puesto que es una de las metas en el desarrollo de sistemas de liberación. Es decir que al tener una estructura de hidrogel que permita tener una liberación controlada del fármaco, es posible mantener niveles terapéuticos controlados. Esto significa que se reduce el consumo de dosis diario de acetaminofén, lo cual minimiza efectos secundarios en el consumidor y reduce el riesgo de sobredosis [10].

El proyecto fomenta la sostenibilidad en fármacos mediante el uso de quitosano y almidón, polímeros naturales y biodegradables, para formular hidrogeles de bajo impacto ambiental. Esto debido a que se degradan de manera natural y se reduce el impacto de residuos tóxicos. Pues en los últimos años se ha evidenciado que existe una gran acumulación de micro plásticos debido a la dependencia de polímeros sintéticos derivados del petróleo [11]. Es así como este proyecto establece un precedente en el desarrollo de nuevos métodos para la formación de hidrogeles que se alineen con los principios de economía circular.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Formular hidrogeles a través de polímeros naturales (quitosano-almidón oxidado), para la liberación controlada de fármaco

3.2. Objetivos Específicos

- Optimizar el proceso de entrecruzamiento de los hidrogeles a partir de quitosano-almidón.
- Caracterizar los hidrogeles mediante hinchamiento y FTIR.
- Evaluar la liberación del acetaminofén con la mejor formulación obtenida en el análisis de hinchamiento.

De tal manera, es importante comprender los mecanismos involucrados y propiedades de los materiales que permiten tener avances biomédicos en el desarrollo de hidrogeles a partir de nuevos métodos.

4. METODOLOGÍA

La metodología consta de cuatro pasos importantes que finalmente permiten la formación del hidrogel.

4.1. Preparación de la solución nitrosada

Para la solución nitrosada se requiere de una solución 2% p/v de quitosano en dos medios diferentes, ácido clorhídrico o ácido acético. En la misma se inserta un agitador que permita mezclar y tener una solución homogénea. Esto se realiza en una plancha de agitación en condiciones de 100 rpm (revoluciones por minuto) durante 45 minutos. Una vez que el quitosano se ha disuelto completamente se adiciona una alícuota de 750 uL de nitrito de sodio ($NaNO_2$) a diferentes concentraciones 0.1 M y 0.5M y se deja agitar por 10 min.

Tabla 1. Quitosano en diferentes medios y concentraciones de nitrito de sodio

Polímero	Medio	Nitrito de sodio
Quitosano	HCL	0.1 M
		0.5 M
	CH_3COOH	0.1 M
		0.5 M

4.2. Preparación del almidón oxidado

Seguido, se prepara una suspensión 10% p/v de almidón de yuca en agua destilada. A través de una agitación moderada se agita hasta tener una solución homogénea y se introduce en un reactor de síntesis de alta presión. A continuación, se configura la mufla a condiciones de 140°C durante 0.5h de acuerdo al protocolo de Coello por la mayor presencia de grupos

carbonilos y carboxilos [5]. Se introduce el reactor dentro de la mufla y se espera hasta que se enfríe la solución para poder emplearla en el siguiente paso.

Es así como los hidrogeles se codifican de la siguiente manera, tomando en cuenta que la solución de ácido acético (Sección 2.3) se mantiene constante en todos los hidrogeles.

Tabla 2. Matriz de operación para los hidrogeles

Muestra	Solución entrelazante					Almidón	
	Quitosano	HCl	CH ₃ COOH	NaNO ₂ 0.1M	NaNO ₂ 0.5M	Sin Oxidar	Oxidado
AA_0.1_AG	X		X	X		X	
AA_0.5_AG	X		X		X	X	
AA_0.1_OX	X		X	X			X
AA_0.5_OX	X		X		X		X
HCl_0.1_OX	X	X		X			X
HCl_0.5_OX	X	X			X	X	
HCl_0.1_AG	X	X		X		X	
HCl_0.5_OX	X	X			X		X

4.3. Preparación de la solución de ácido acético

Ahora, se procede a preparar una solución 2% p/v de quitosano en ácido acético. Con la ayuda de un agitador, y de una plancha de agitación a condición de 100 rpm por 45 minutos, se obtiene una mezcla homogénea, en la cual se va a formar el hidrogel.

4.4. Formación del hidrogel

Una vez preparadas las soluciones previas, en la solución que corresponde al ácido acético se procede a colocar un 1mL de la solución nitrosada. Cabe mencionar que esta solución se mantiene en agitación a condiciones de 60 rpm. Posteriormente se adiciona el almidón previamente oxidado durante 10 min. A continuación, la agitación se reduce a 10 rpm y se agrega 2 mL de NaOH 2M durante 10 min hasta que se forme el precipitado, el cual es el hidrogel.

4.5. Lavado y secado

Una vez formado el precipitado se procede a lavarlo en agua destilada 3 veces en periodos de 30 minutos. Se filtra el hidrogel, a través del uso de papel filtro y en un plato de aluminio se lleva el hidrogel al horno a 40°C durante 48 horas, en donde se obtiene una muestra seca.

4.6. Evaluación de hinchamiento

La prueba de hinchamiento se realiza de acuerdo al protocolo de Coello [5]. Para ello, con el hidrogel totalmente seco, se procede a triturarlo con un mortero y pistilo de porcelana con la finalidad de reducir el tamaño del hidrogel. Cabe mencionar que esta prueba se realizó por triplicado para cada hidrogel. Seguido, se pesa tres fracciones iguales de hidrogel, y en una placa de cultivo celular se sumerge el fragmento de hidrogel en 2mL de una solución de PBS (Buffer Fosfato Salino) cuyo pH es 7.4. Dicha placa se introduce en una incubadora cuya temperatura es de 37°C. De este modo, se procede a pesar la muestra húmeda a distintos intervalos de tiempo 1, 2, 3, 5, 7, 9, 24, 48, 72 horas, con el propósito de determinar su estabilidad por medio del porcentaje de hinchamiento. Esto se realiza a través de la siguiente ecuación:

$$\%H = \frac{M_T - M_0}{M_0} \times 100 \quad (3)$$

Donde %H, es el porcentaje de hinchamiento en [%], M_0 es la masa del hidrogel inicial en [g] y M_T la masa del hidrogel en el intervalo de tiempo específico en [g].

4.7. Encapsulación del acetaminofén

Para la encapsulación del acetaminofén en el hidrogel, se procede a realizar la metodología desde la sección 2.1. a la 2.3. Ahora, en la solución de ácido acético se adiciona 1 mL de la solución nitrosada. Se mantiene la agitación en 60 rpm. Se adiciona el almidón oxidado durante

10 min. Es aquí en donde se agrega 1 mL de una solución 10% p/v de acetaminofén estándar (Sigma Aldrich A3035) en agua destilada y se deja en agitación por 20 minutos. A continuación, la agitación se reduce a 10 rpm y se agrega 2 mL de NaOH 2M durante 10 min hasta que se forme el precipitado, el cual es el hidrogel. Finalmente, se procede a realizar los pasos de la sección 2.5, que corresponde al lavado y secado.

4.8. Liberación del acetaminofén

Con respecto a la liberación de acetaminofén y su evaluación, se emplean tres fragmentos de hidrogel que posee acetaminofén, tal como indica la sección 2.7. En la placa de cultivo se procede a colocar cada fragmento y sumergirlo en 2mL de PBS. Ahora, en intervalos de tiempo de 1, 2, 3, 4, 6, 24, 48 y 72 horas se toma con una micropipeta alícuotas de 100 uL, las cuales se colocan en tubos eppendorf. De inmediato se coloca 100 uL de solución fresca de PBS.

De esta forma, la alícuota extraída, se afora con 2 mL de PBS y se mide la absorbancia por medio el espectrofotómetro UV-Vis modelo Hanon i5 a una longitud de onda de 243nm.

Sucesivo a esto, para determinar la concentración de acetaminofén en las soluciones, se emplea una curva de calibración la cual se realizó a partir de una solución madre 0.7 ppm.

Por lo tanto, la liberación de acetaminofén se obtuvo a partir de la siguiente ecuación

$$\%L = (M_P - M_F) * 100 \quad (2)$$

Donde %L es el porcentaje de liberación en [%], M_P es la masa del acetaminofén en el tiempo específico en [mg] y M_F es el mayor valor de la masa del acetaminofén en todo el tiempo en [mg].

4.9 Análisis

4.9.1. FTIR.

El análisis FTIR (Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier), se realizó en el equipo “Cary 630 FTIR Spectrometer” de Agilent, el cual permitió la caracterización de los hidrogeles. Esto a través de un espectro infrarrojo que corresponde a una gráfica de la transmitancia en función del número de onda (cm^{-1}). Este análisis nos permite conocer grupos funcionales presentes en la muestra a través de la interacción de radiación infrarroja con el hidrogel, siendo un método no destructivo.

4.9.2. Estadístico.

Para el análisis estadístico, la toma de datos de cada hidrogel se realizó por triplicado, para lo cual los resultados muestran el resultado del promedio con la desviación estándar. De igual forma se realizó un análisis de varianza ANOVA en Minitab, con comparación de pares de Tukey para verificar la existencia de diferencias que son estadísticamente significativas entre las muestras, como se indica en el Anexo D. Se realizó con un 95% de confianza ($p < 0.05$).

5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. Formulación de la solución entrecruzante

La etapa inicial de la preparación de los hidrogeles es la solución nitrosada en la cual se varió la concentración del uso de nitrito de sodio (NaNO_2) y en el medio en el que se expone, tal como indica la Tabla 1.

La reacción que se da en este caso es a través del nitrito de sodio en medio ácido. En el caso de la experimentación se realizó con ácido acético (CH_3COOH) y ácido clorhídrico (HCl). El quitosano reacciona con el ácido provocando una desaminación, el cual es la eliminación de los grupos amino (NH_2) del quitosano para reemplazarlos por un grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) como un aldehído; y depolimerización, la cual consiste en la ruptura de los enlaces de los polímeros. Es así como se forma el 2,5-anhidro-D-manosa en el extremo reductor del polímero del quitosano, que posee un grupo aldehído ($-\text{CHO}$) en su estructura. Como resultado se tiene una solución homogénea dado que el quitosano es muy soluble en soluciones ácidas [9]

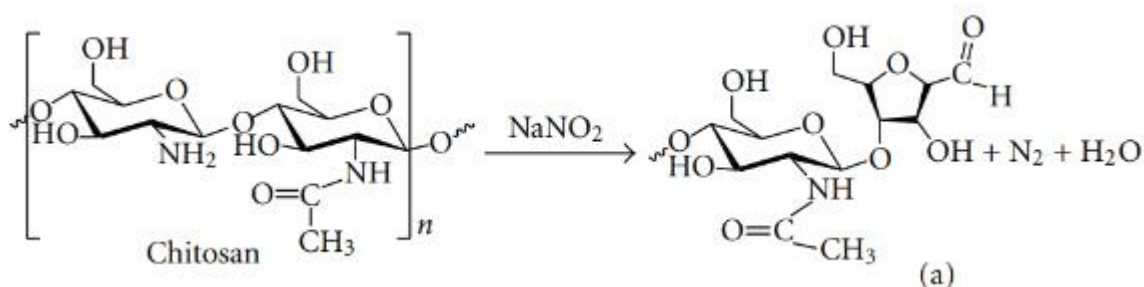


Figura 1. Reacción de nitrosación.

A continuación, en las figuras 2 y 3 se muestra el FTIR correspondiente al control la cual consta de quitosano en medio HCl y CH_3COOH

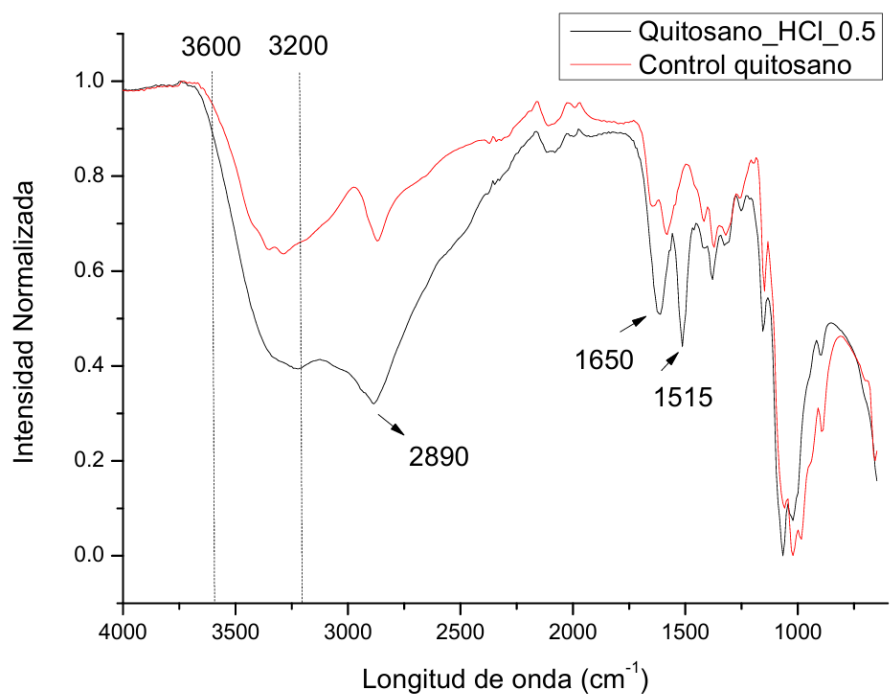


Figura 2. Espectro FTIR para la solución nitrosada en HCl.

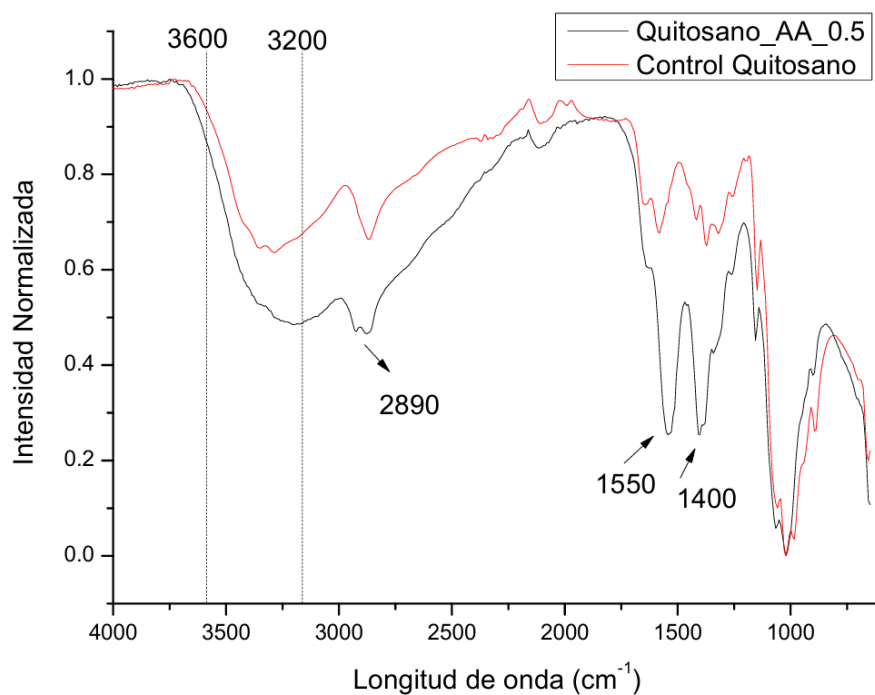


Figura 3. Espectro FTIR para la solución nitrosada en Ácido Acético.

En las figuras 2 y 3, se puede visualizar cuatro espectros. El espectro de color rojo corresponde al quitosano puro (control), mientras que el espectro negro al quitosano en medio de ácido clorhídrico o ácido acético con una alícuota de nitrito de sodio 0.5M. En ambas figuras se observa una disminución de la intensidad y un ensanchamiento en la banda de $3200 - 3600 \text{ cm}^{-1}$, lo que muestra cambios en los grupos hidroxilo (-OH) y grupo aminos ($-NH_2$), debido a la reacción de nitrosación en donde hay modificaciones en los enlaces de hidrógeno (Figura 1). En la figura 2, en el pico de 1620 cm^{-1} , hay un aumento de la intensidad que indican la formación de enlaces (C=O) tras la interacción del quitosano (grupo amino) con el ácido (HCl) [10]. Mientras que en la figura 3, se ve un desplazamiento de este pico a 1550 cm^{-1} pues se genera una protonación parcial en los grupos aminos, dado que el ácido acético es un ácido débil, por lo que los enlaces N-H son menos rígidos. Así también en la figura 2, el pico de 1515 cm^{-1} es muy definido en la muestra modificada por la protonación de los grupos aminos en medio ácido, mientras que en el control los grupos aminos del quitosano se encuentran en su forma estándar. En la figura 3, este pico está en la longitud de onda de 1400 cm^{-1} , dado que las interacciones del grupo carboxilo (-COOH) del ácido acético generan un entorno menos rígido reduciendo la frecuencia vibracional [11]. Por último, en base a la figura 2 en la región de 1370 y 1450 cm^{-1} , se tiene una mayor definición de los picos debido a la reacción entre el nitrito de sodio y los grupos aminos primarios del quitosano. Esto evidencia una modificación en los enlaces (C-N). Mientras que en la figura 3, se evidencia picos menos intensos desplazados a frecuencias bajas por la interacción del grupo carboxilo con los grupos funcionales del quitosano.

5.2. Efecto del nitrito de sodio en el hinchamiento de los hidrogeles

Se realizó la evaluación del hinchamiento de los hidrogeles, considerando que la relación de los polímeros, es decir quitosano-almidón es 1:1.

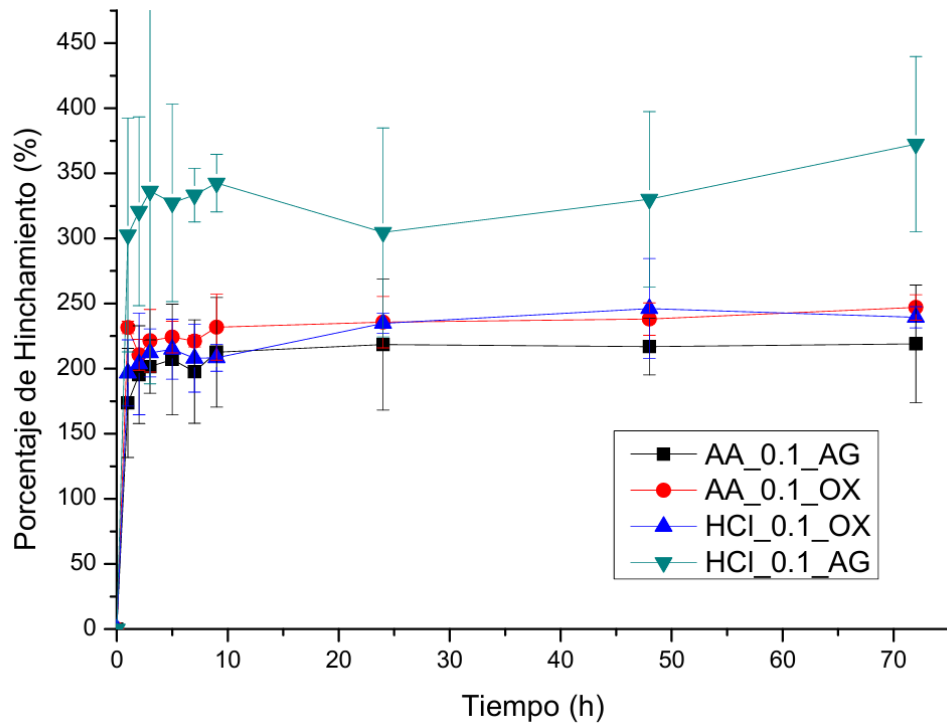


Figura 4. Prueba de estabilidad (hinchamiento) con $NaNO_2$ 0.1M.

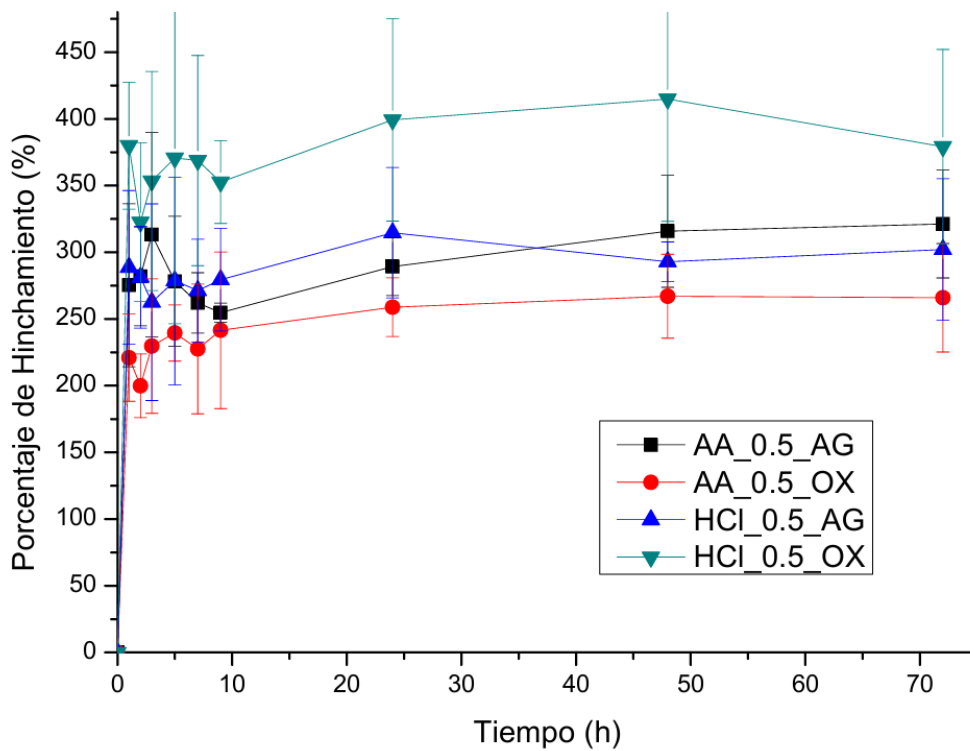


Figura 5. Prueba de estabilidad (hinchamiento) con $NaNO_2$ 0.5M.

Se puede observar que el hidrogel que posee mayor hinchamiento es el HCL_0.5_AA_OX, es decir en donde la composición de la solución nitrosada corresponde a un medio de ácido clorhídrico con $NaNO_2$ 0.5M. La formación del hidrogel es en medio constante de ácido acético y con almidón oxidado. De esta manera, se aprecia un hinchamiento acelerado en las primeras horas, siendo su valor máximo 415% a las 48 h. A pesar de que el hinchamiento disminuye a las 72h sigue siendo el mayor valor en contraste a los demás hidrogeles con un 379%. Así también el hidrogel que posee menos hinchamiento corresponde a HCL_0.1_AA_OX en donde su valor máximo de hinchamiento corresponde a 246%. Ahora, contrastando ambos hidrogeles la diferencia se encuentra en la concentración del nitrito de sodio por lo que a mayor concentración existe mayor gradiente osmótica. Esto debido a la presencia de mayor concentración iónica dentro del hidrogel con su entorno y separación de las cadenas poliméricas, lo que permite una expansión de este [12]. Mientras que a menor concentración de nitrito de sodio la red es menos cargada por que la estructura del hidrogel es más rígida y la absorción se ve limitada.

5.3. Análisis de hinchamiento a diferentes relaciones poliméricas

Una vez determinada el hidrogel que tiene mayor hinchamiento, se prepara los hidrogeles acorde a lo expuesto en la metodología, empleando diferentes relaciones porcentuales tal como se indica en la Tabla 3.

Tabla 3. Relaciones porcentuales de polímeros en los hidrogeles

Qitosano	Almidón
100%	0%
83%	17%

50%	50%
17%	83%
0%	100%

De esta manera, se realizó la evaluación del hinchamiento considerando las cantidades de los polímeros empleados. La figura 6, indica el porcentaje de hinchamiento que tiene cada hidrogel.

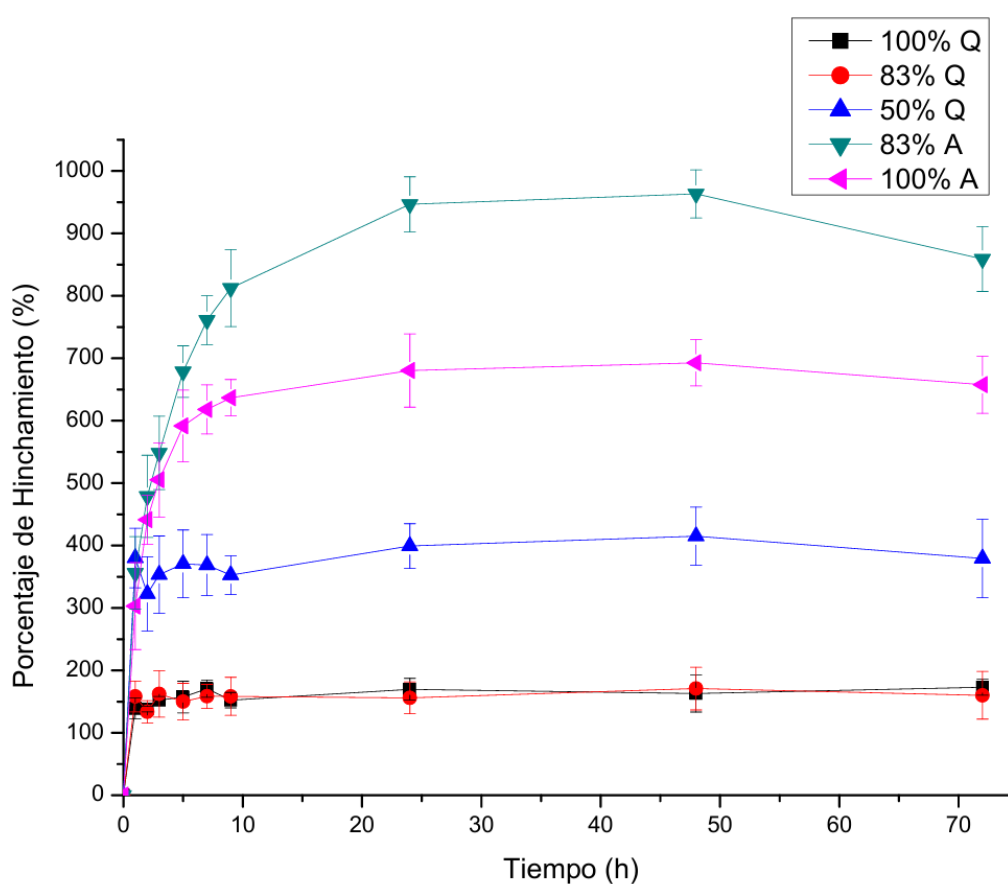


Figura 6. Prueba de estabilidad (hinchamiento) de los hidrogeles con diferentes relaciones.

Como es evidente, la capacidad de absorción y retención de líquido de los hidrogeles depende significativamente de la proporción de quitosano y almidón. El hidrogel cuya composición es 17% quitosano y 83% almidón presenta mayor porcentaje de hinchamiento con un valor máximo global de 963%. Esto se explica por la alta proporción de almidón que permite que

exista una estructura más porosa para la absorción de agua debido a su cantidad alta de grupos hidroxilo (-OH). Ahora, a medida que la proporción de quitosano aumenta, el hinchamiento se reduce como sucede con el hidrogel cuya composición es de 83% quitosano y 17% almidón y su valor máximo global es de 171%. Es decir que el quitosano a pesar de ser también un polímero hidrofílico promueve la formación de una red más densa y menos porosa, lo cual limita la absorción de agua [13]. Este fenómeno sugiere que la proporción del almidón tiene un papel clave en el hinchamiento y da a entender que la interacción entre ambos polímeros es importante.

Por lo tanto, el hidrogel que muestra un comportamiento intermedio es cuyo porcentaje de polímeros es 50% para cada uno. Esto refleja un equilibrio en la interacción entre el quitosano y almidón, debido a que el quitosano al tener grupos funcionales cargados ($-NH_3^+$) contribuye a captar y retener agua en la red, evitando así la degradación del hidrogel [14]. Mientras que el almidón forma una estructura porosa y expansiva. Por lo tanto, se obtiene un hidrogel flexible y estable.

5.4. Análisis de la liberación del acetaminofén

La liberación del fármaco presenta comportamientos específicos de acuerdo con las relaciones empleadas de polímero. Este análisis permite determinar la aplicabilidad en contextos terapéuticos.

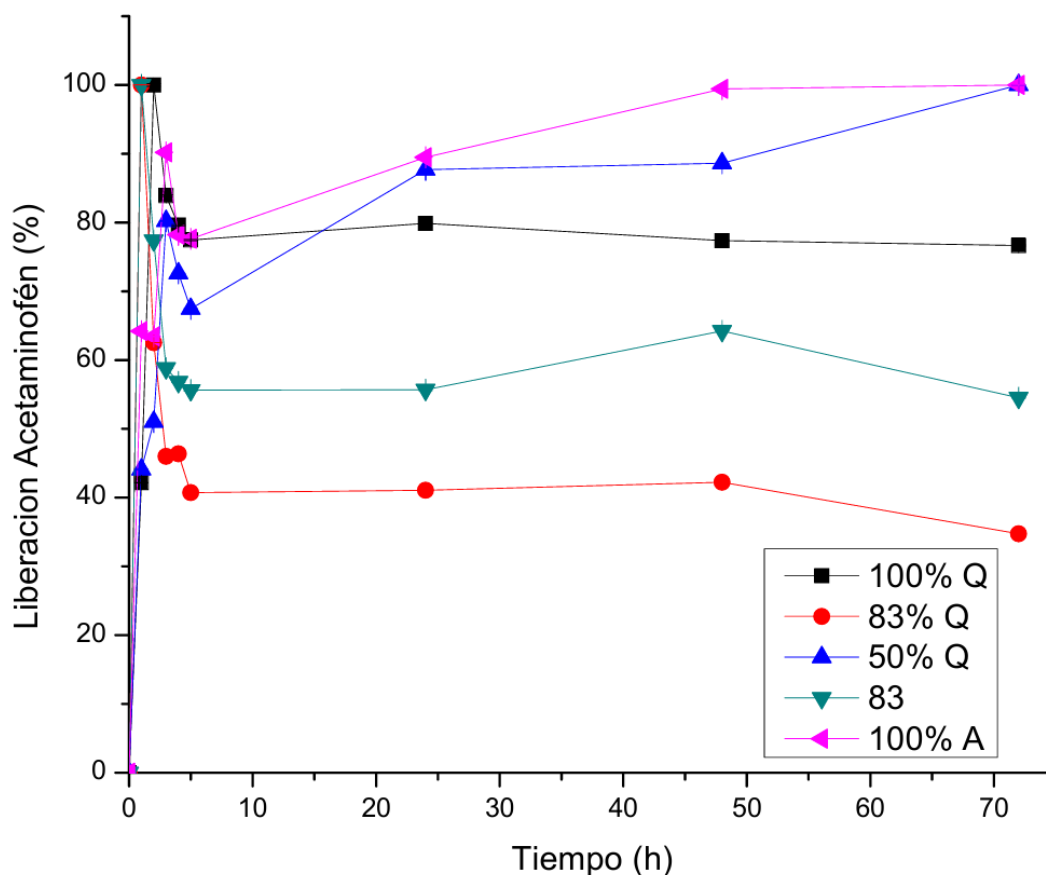


Figura 7. Liberación del acetaminofén para todos los hidrogeles con distintas relaciones.

La liberación de acetaminofén cuya estructura es 83% almidón o quitosano presentan una liberación del fármaco extremadamente rápida, lo cual es evidente en la figura 7 ya que su porcentaje a la primera hora se encuentra en 100%. Sucede lo mismo con el hidrogel de composición 100% quitosano en la hora 2. Ahora, el organismo no tiene la capacidad de absorber todo el fármaco liberado en un periodo corto de tiempo, lo cual tendría como consecuencia una baja eficiencia en cuanto a la actuación del fármaco. Además de que el tener una concentración alta en un periodo corto de tiempo puede ocasionar efectos secundarios y toxicidad. Esto indica que la liberación no es controlada [15].

Por otra parte, cuando el hidrogel se compone de 100% almidón, se tiene una liberación controlada. Sin embargo, sus valores de concentración son muy bajos. A diferencia del hidrogel que contiene 50% quitosano y 50% almidón. Al tener una combinación de ambos polímeros,

se evidencia en la figura 7 una liberación con incremento gradual. Es decir que a las 72 horas se alcanza el valor máximo global de liberación, mostrando un perfil adecuado de liberación controlada y sostenida. Esto se debe a que mientras el quitosano absorbe agua y libera acetaminofén, el almidón actúa como una matriz que regula la difusión del fármaco hacia el medio [16].

5.4.1. FTIR.

Para el correspondiente análisis de grupos funcionales presentes en la muestra, se presentan los controles correspondientes al quitosano y al almidón de yuca en diferentes medios en la figura 8. También se muestra en su estructura pura, sin modificación. En este caso se aprecia que el pico de 1000 cm^{-1} en donde se evidencia grupos hidroxilo (-OH) y éter (C-O-C) es característico en el almidón [17], por lo que un cambio en la intensidad de los hidrogeles formados indica modificaciones en la estructura del polímero, ya sea por su oxidación o hidrolización. En el quitosano también se evidencia en el mismo pico al grupo hidroxilo (-OH), éter (C-O-C) y amino ($-NH_2$)

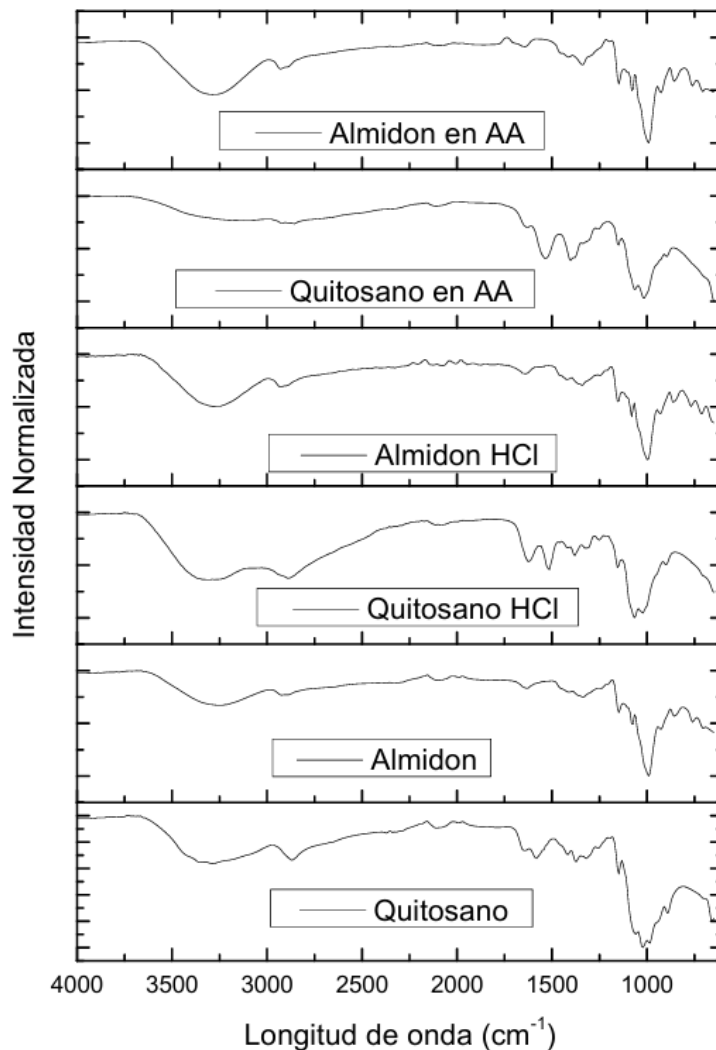


Figura 8. Espectro FTIR de los controles

En la figura 9 que se muestra a continuación, se puede visualizar los espectros de la intensidad normalizada con respecto a la longitud de onda cm^{-1} . En este caso se analiza en base a las composiciones de quitosano-almidón. Por ende, se observa un pico característico en la banda de 1000 cm^{-1} que hace referencia al grupo (C-O) por el estiramiento de los enlaces glucosídicos de polisacáridos, en este caso del almidón. Así también hay presencia de grupos carbonilos (C=O) que se presenta en la banda de 1640 cm^{-1} .

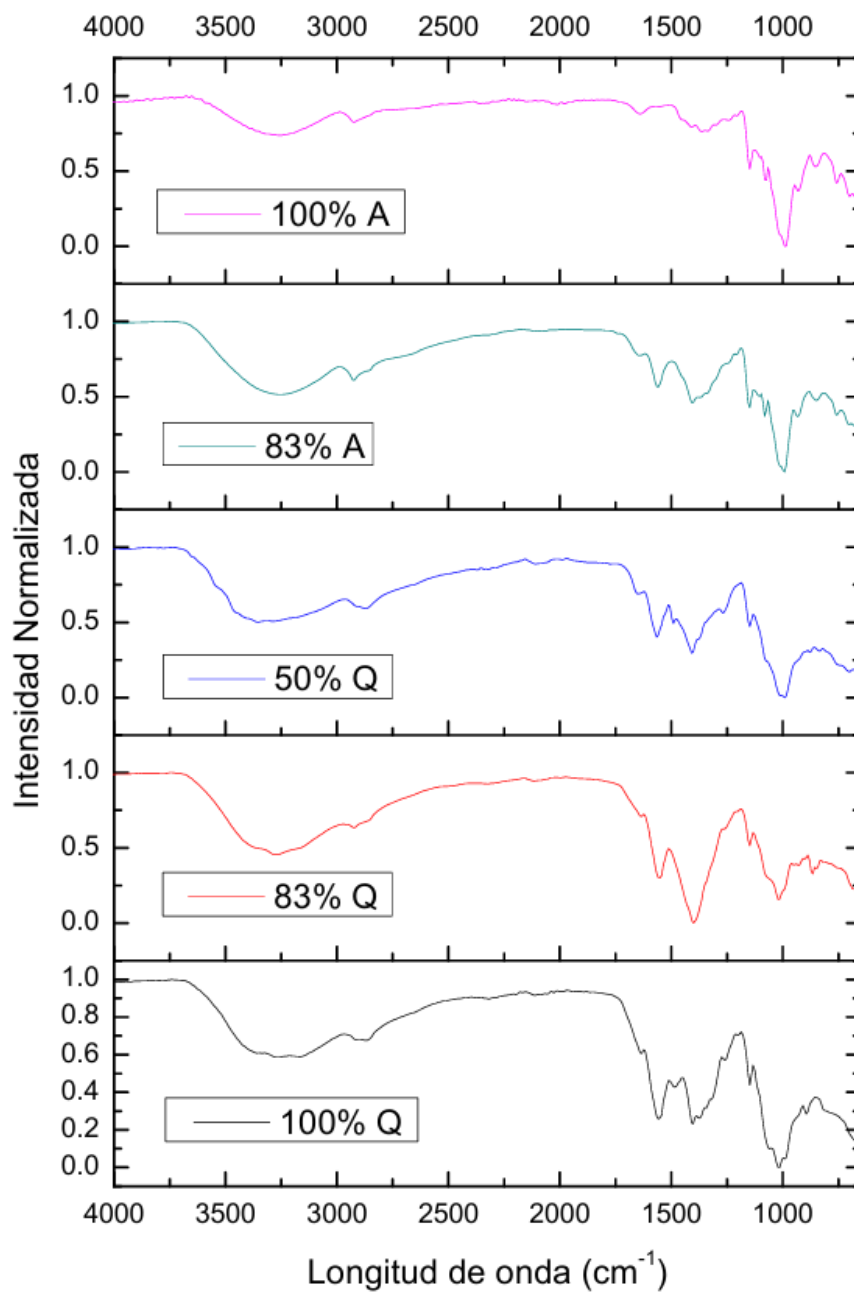


Figura 9. Espectro FTIR para cada diferente composición de quitosano-almidón.

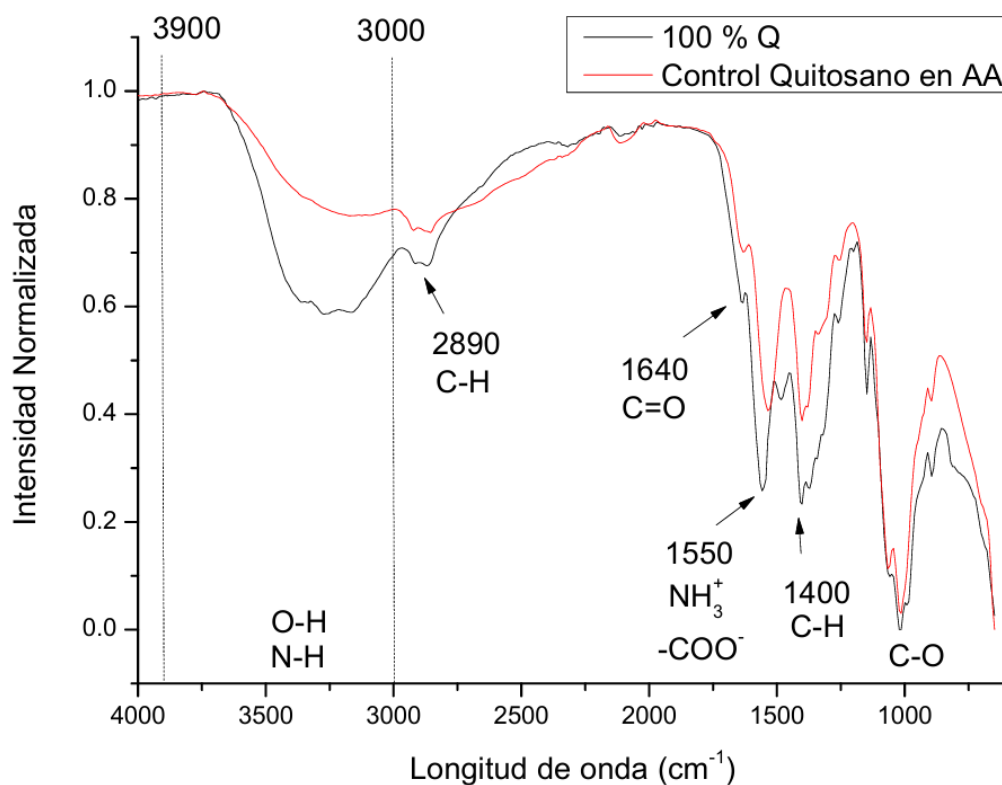


Figura 10. Espectro FTIR para el hidrogel con 100% quitosano y su control.

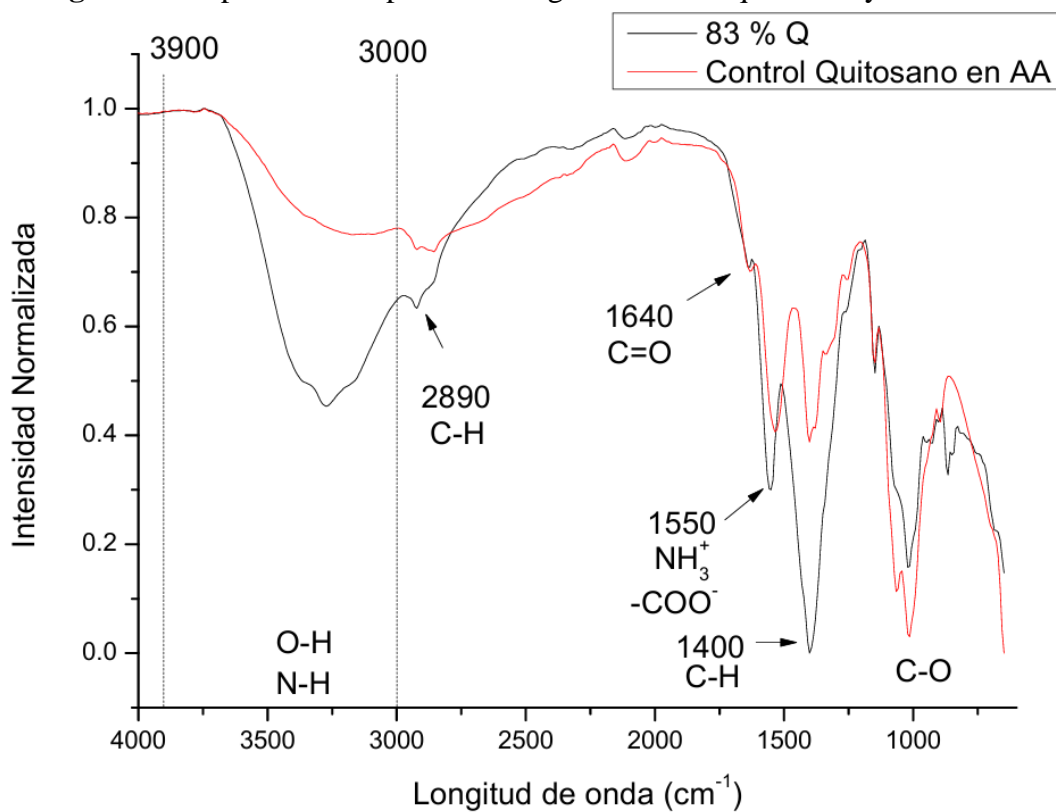


Figura 11. Espectro FTIR para el hidrogel con 83% quitosano y su control.

En las figuras 10 y 11, se evidencia en la región de 3000 a 3900 cm^{-1} el estiramiento de los enlaces O-H del grupo hidroxilo, ya que se tiene una banda más ancha. Esto se debe a la formación de enlaces hidrógeno entre los grupos -OH del almidón y NH_2 del quitosano.

De la misma manera, de 2000 a 2850 cm^{-1} se tiene la tensión C-H de la unidad anhidro glucosa de las moléculas del almidón[18]. Ahora en el pico que se aprecia en 2890 cm^{-1} , la intensidad disminuye porque hay menor contribución de enlaces C-H por el almidón. Sin embargo, en las figuras 13 y 14, este pico se forma por la presencia de quitosano en la solución nitrosada.

Ahora el pico 1640 cm^{-1} se debe a las vibraciones del enlace tipo estiramiento de C=O del almidón e incluso la interacción del almidón con el quitosano, por lo que existe mayor capacidad de retención de agua. Por otra parte, cuando el quitosano interacciona con el ácido acético se forma el acetato de amonio. Esta sal de amonio típicamente presenta una banda cerca de 1550 cm^{-1} y también en 1514 cm^{-1} que corresponde a los grupos aminos protonados, la cual se encuentra solapada. Es así como en las figuras 10 y 11 el pico en 1150 cm^{-1} es más definido por la presencia de mayor proporción de quitosano. Mientras que en la figura 13, el pico se reduce por la presencia de quitosano en un 17% y en la figura 14 no se visualiza por la ausencia de dicho polímero, ya que su estructura es de 100% almidón. Ahora, en el pico de 1400 cm^{-1} se evidencia mayor contribución de los enlaces C-H cuyas vibraciones son tipo flexión por su alta composición de quitosano en ambas gráficas, lo que es evidente en las figuras 10 y 11 en donde la proporción de almidón es nula o menor, respectivamente. De esta forma el pico se reduce y se encuentra sobre el control [19]. Ahora en la gráfica 12 se aprecia que el espectro del hidrogel para cada polímero tiene un comportamiento similar a la del control. Esto debido a que su composición es del 50% para cada polímero por lo que hay presencia de grupos aminos y también mayor vibración de enlaces C-H.

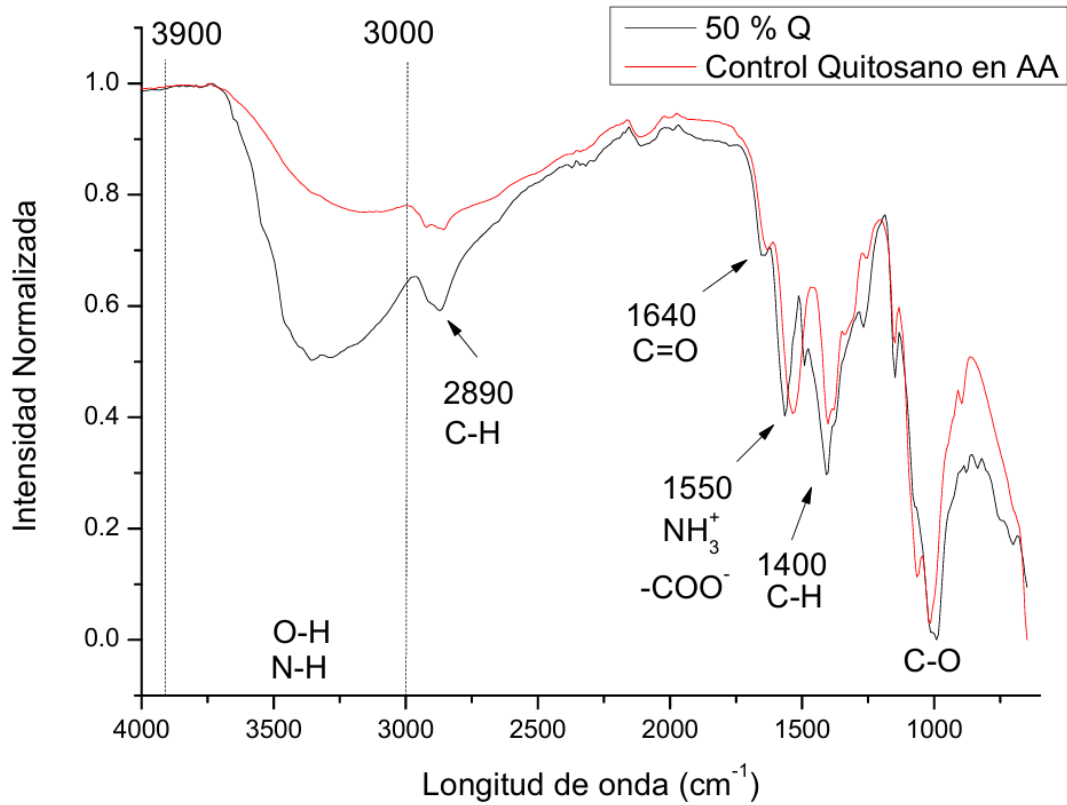


Figura 12. Espectro FTIR para el hidrogel con 50% quitosano y su control.

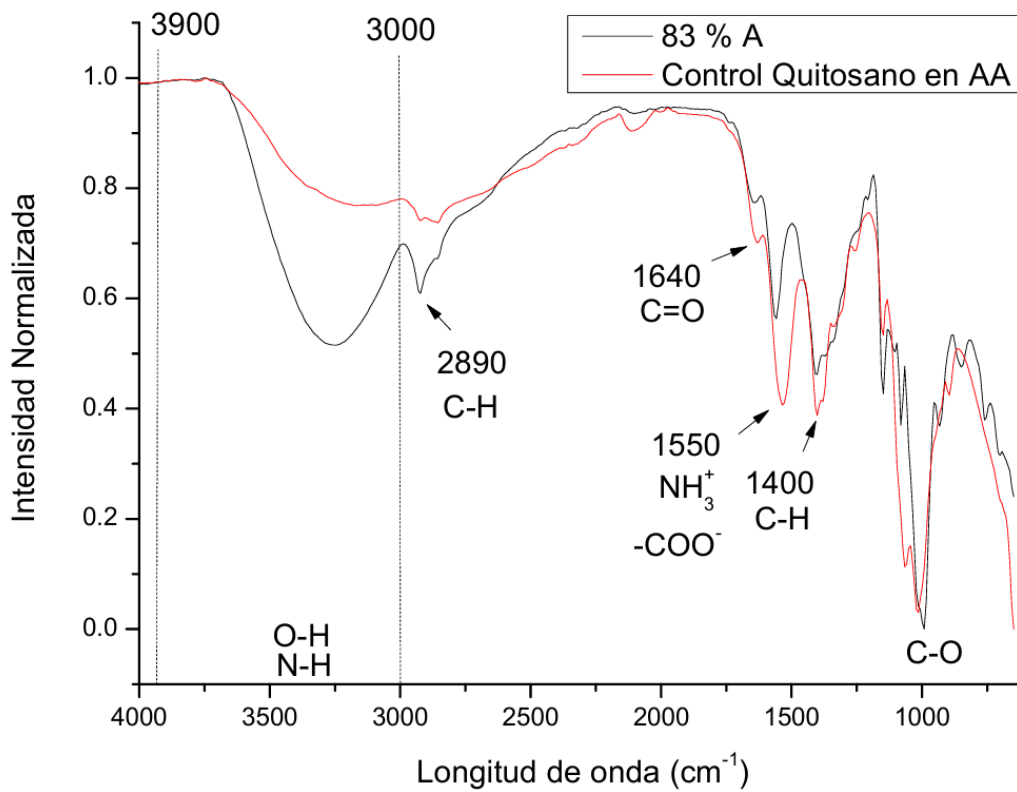


Figura 13. Espectro FTIR para el hidrogel con 83% almidón y su control.

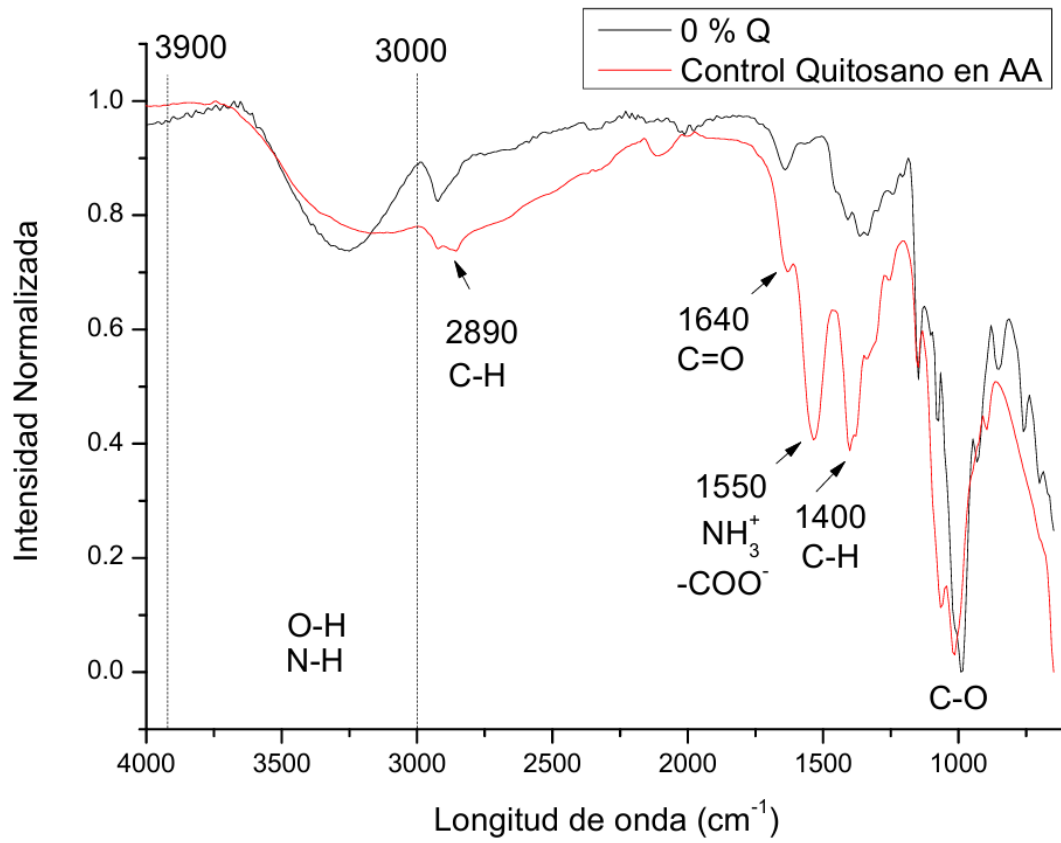


Figura 14. Espectro FTIR para el hidrogel con 100% almidón y su control.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

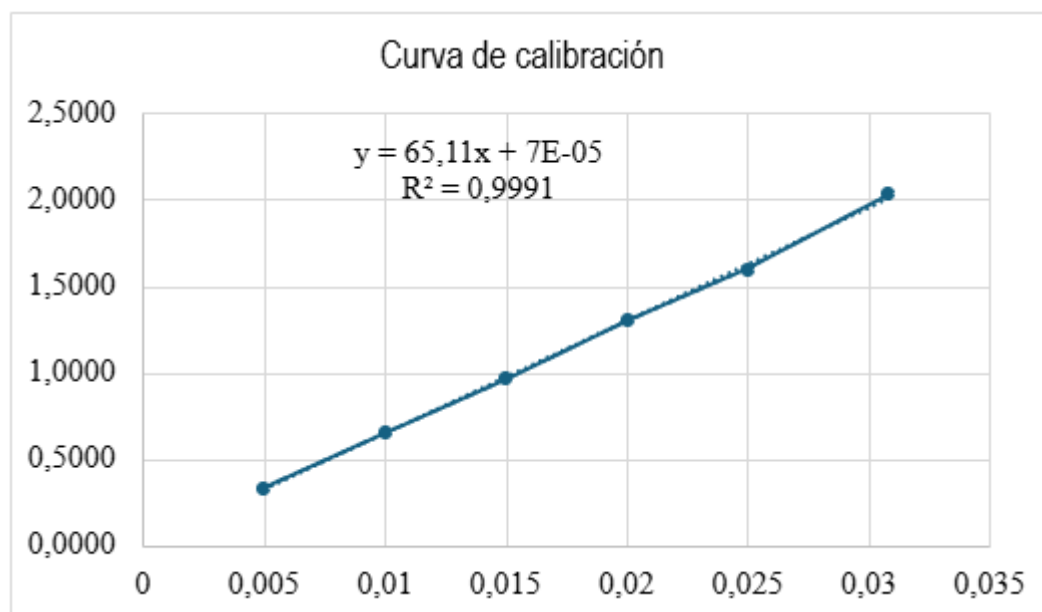
Con la experimentación se define que el hidrogel que posee mayor hinchamiento es el HCl_0.5_AA_OX, el cual corresponde a la solución nitrosada con mayor concentración cuyo medio es un ácido fuerte (ácido clorhídrico). Además, se evidencia que la composición del quitosano-almidón interviene en la liberación del acetaminofén. Esto indica que cuando la proporción de polímeros naturales es 1:1, la liberación es eficiente. Es decir que durante las primeras horas el acetaminofén se libera gradualmente en contraste con la liberación de los hidrogeles cuya relación es diferente. Es así como se define que la liberación que se obtuvo es la que mejor se ajusta a una liberación controlada y sostenida en el tiempo en las 24 y 48 horas, lo cual muestra una interacción complementaria, en cuanto al hinchamiento y la liberación del fármaco.

Por otra parte, se recomienda realizar el análisis de termogravimetría (TGA) para evaluar la estabilidad térmica de los hidrogeles. Este análisis indica el porcentaje de pérdida o ganancia de peso por descomposición cuando la muestra se somete a diferentes temperaturas. Así también se recomienda realizar microscopía electrónica de barrido (SEM), para analizar la estructura de los hidrogeles, así como su morfología. Es decir que permite observar la red porosa e identificar defectos estructurales que permitan mejorar los hidrogeles.

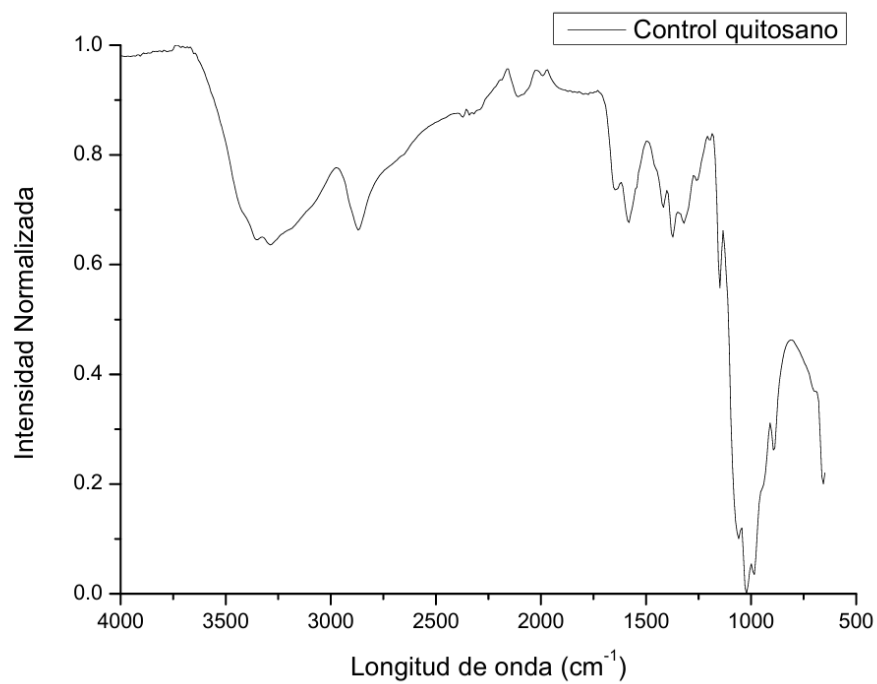
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] R. Ansar *et al.*, “Challenges and recent trends with the development of hydrogel fiber for biomedical applications,” *Chemosphere*, vol. 287, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.131956.
- [2] S. Ahmadi *et al.*, “Hydrogel-based materials as antibacterial agents and super adsorbents for the remediation of emerging pollutants: A comprehensive review,” Sep. 01, 2024, *KeAi Communications Co.* doi: 10.1016/j.emcon.2024.100336.
- [3] K. Zöllner, D. To, and A. Bernkop-Schnürch, “Biomedical applications of functional hydrogels: Innovative developments, relevant clinical trials and advanced products,” Jan. 01, 2025, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.biomaterials.2024.122718.
- [4] W. Sun, W. Wu, X. Dong, and G. Yu, “Frontier and hot topics in the application of hydrogel in the biomedical field: a bibliometric analysis based on CiteSpace,” *J Biol Eng*, vol. 18, no. 1, Dec. 2024, doi: 10.1186/s13036-024-00435-2.
- [5] “UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ Colegio de Ciencias e Ingenierías.”
- [6] M. Gabriela, Q. Garzón, N. Del Profesor, T. Académico, J. Álvarez, and J. Mora, “UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ Colegio de Ciencias e Ingenierías HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA Formación de hidrogeles de pectina y quitosano utilizando ácido succínico como agente entrecruzante para la liberación controlada de acetaminofén.” [Online]. Available: <http://bit.ly/COPETheses>.
- [7] “PRINCIPALES GRUPOS FUNCIONALES DE LA QUÍMICA ORGÁNICA.” [Online]. Available: www.FreeLibros.com
- [8] J. Strankowska, M. Grzywińska, E. Łęgowska, M. Józefowicz, and M. Strankowski, “Transport Mechanism of Paracetamol (Acetaminophen) in Polyurethane Nanocomposite Hydrogel Patches—Cloisite® 30B Influence on the Drug Release and Swelling Processes,” *Materials*, vol. 17, no. 1, Jan. 2024, doi: 10.3390/ma17010040.
- [9] M. E. I. Badawy, “A New Rapid and Sensitive Spectrophotometric Method for Determination of a Biopolymer Chitosan,” *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, vol. 2012, pp. 1–7, Jul. 2012, doi: 10.1155/2012/139328.
- [10] S. Hidayati, W. Satyajaya, and A. Fudholi, “Lignin isolation from black liquor from oil palm empty fruit bunch using acid,” *Journal of Materials Research and Technology*, vol. 9, no. 5, pp. 11382–11391, 2020, doi: 10.1016/j.jmrt.2020.08.023.
- [11] M. T. Colomer, “Straightforward synthesis of Ti-doped YSZ gels by chemical modification of the precursors alkoxides,” *J Solgel Sci Technol*, vol. 67, no. 1, pp. 135–144, Jul. 2013, doi: 10.1007/s10971-013-3059-9.
- [12] R. A. Keraliya *et al.*, “Osmotic Drug Delivery System as a Part of Modified Release Dosage Form,” *ISRN Pharm*, vol. 2012, pp. 1–9, Jul. 2012, doi: 10.5402/2012/528079.
- [13] S. P. Chawla, S. R. Kanatt, and A. K. Sharma, “Chitosan,” in *Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology*, Springer International Publishing, 2015, pp. 219–246. doi: 10.1007/978-3-319-16298-0_13.
- [14] S. Albushabaa, “A quick overview of chitosan, its sources and applications-A review”, doi: 10.13140/RG.2.2.16590.54088.
- [15] À. Vidal Miquel, P. Sant Francesc, A. Vidal Miquel, A. Benet Català, and F. N. Ortín Font Caelles Franch, “ORIGINALES DELAYED RELEASE DRUGS OR WITH

- ENTERIC COVER: ARE THEY CORRECTLY USED? Fármacos de liberación retardada o con cubierta entérica: ¿se utilizan correctamente?,” 2004.
- [16] D. Soto and H. Oliva, “MÉTODOS PARA PREPARAR HIDROGELES QUÍMICOS Y FÍSICOS BASADOS EN ALMIDÓN: UNA REVISIÓN METHODS FOR PREPARATION OF CHEMICAL AND PHYSICAL HYDROGELS BASED ON STARCH. A REVIEW,” *Rev. LatinAm. Metal. Mat*, vol. 32, no. 2, pp. 154–175, 2012, [Online]. Available: www.rlmm.org
- [17] Y. Ai and J. lin Jane, “Understanding Starch Structure and Functionality,” in *Starch in Food: Structure, Function and Applications*, Elsevier, 2017, pp. 151–178. doi: 10.1016/B978-0-08-100868-3.00003-2.
- [18] J. Figueroa-Flórez and J. G. Salcedo, “Acetilación del almidón nativo de batata (*Ipomeas batata* L).” [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/340815806>
- [19] A. Ghosh and M. A. Ali, “Studies on physicochemical characteristics of chitosan derivatives with dicarboxylic acids,” *J Mater Sci*, vol. 47, no. 3, pp. 1196–1204, Feb. 2012, doi: 10.1007/s10853-011-5885-x.

ANEXO A: CURVA DE CALIBRACIÓN**Figura 14.** Curva de calibración del acetaminofén.

Concentración	Absorbancia
0,0308	2,0319
0,0250	1,5985
0,0200	1,3003
0,0150	0,9678
0,0100	0,6555
0,0050	0,3350

ANEXO B: CONTROL QUITOSANO EN H_2O **Figura 15.** Espectro FTIR del quitosano puro.

ANEXO C: FTIR DE HIDROGELES CON DIFERENTES COMPOSICIONES QUITOSANO-ALMIDÓN

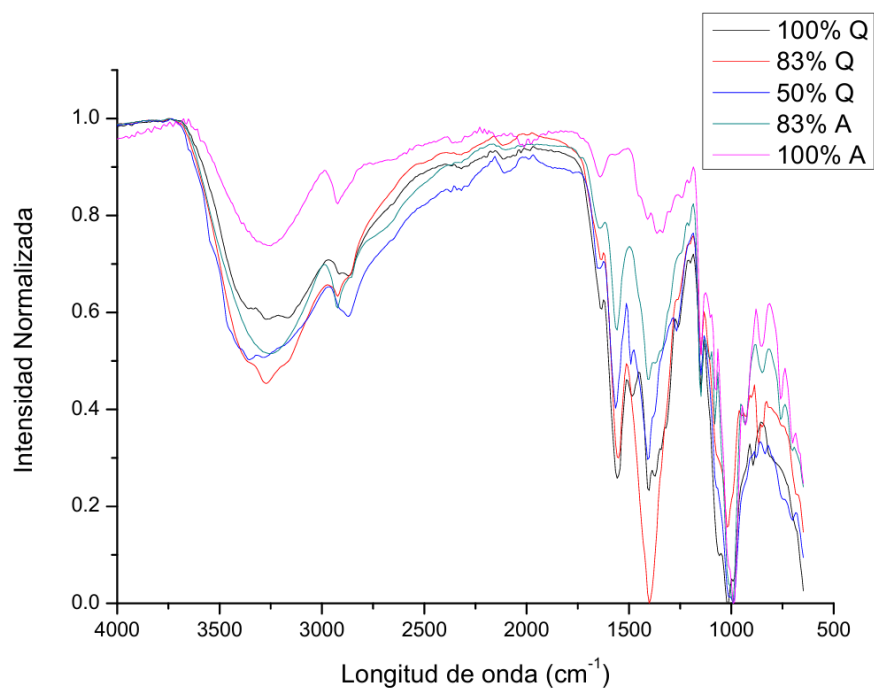


Figura 16. Espectro FTIR de los hidrogeles con diferentes relaciones quitosano-almidón.

ANEXO D: ANÁLISIS ANOVA Y TUKEY (CONCENTRACIÓN, TIEMPO Y MEDIO)

General Linear Model: Hinchamiento versus Tiempo; Concentración NaNO₂; Medio; Almidón

Method

Factor coding (-1; 0; +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Tiempo	Fixed	9	1; 2; 3; 5; 7; 9; 24; 48; 72
Concentración NaNO ₂	Fixed	2	A; B
Medio	Fixed	2	AA; HCl
Almidón	Fixed	2	Oxidado; Sin Oxidar

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tiempo	8	39656	4957	1.54	0.146
Concentración NaNO ₂	1	81887	81887	25.47	0.000
Medio	1	132665	132665	41.27	0.000
Almidón	1	31826	31826	9.90	0.002
Tiempo*Concentración NaNO ₂	8	7166	896	0.28	0.972
Tiempo*Medio	8	1240	155	0.05	1.000
Tiempo*Almidón	8	7274	909	0.28	0.971
Concentración NaNO ₂ *Medio	1	12867	12867	4.00	0.047
Concentración NaNO ₂ *Almidón	1	97820	97820	30.43	0.000
Medio*Almidón	1	6704	6704	2.09	0.150
Error	177	568979	3215		
Lack-of-Fit	33	190016	5758	2.19	0.001
Pure Error	144	378963	2632		
Total	215	988083			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
56.6972	42.42%	30.05%	14.24%

Comparisons for Hinchamiento

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Hinchamiento, Term = Concentración NaNO₂

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Concentración NaNO ₂	N	Mean	Grouping
A	108	295.990	A
B	108	257.048	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Hinchamiento, Term = Medio

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Medio	N	Mean	Grouping
HCl	108	301.302	A
AA	108	251.736	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Hinchamiento, Term = Almidón

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Almidón	N	Mean	Grouping
Sin Oxidar	108	288.657	A
Oxidado	108	264.380	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Hinchamiento, Term = Concentración NaNO₂*Medio

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Concentración NaNO ₂ *Medio	N	Mean	Grouping
A HCl	54	328.490	A
B HCl	54	274.113	B
A AA	54	263.489	B C
B AA	54	239.983	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Hinchamiento, Term = Concentración NaNO₂*Almidón

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Concentración NaNO ₂ *Almidón	N	Mean	Grouping
A Oxidado	54	305.132	A
B Sin Oxidar	54	290.467	A
A Sin Oxidar	54	286.847	A
B Oxidado	54	223.629	B

Means that do not share a letter are significantly different.

ANEXO E: ANÁLISIS ANOVA Y TUKEY (RELACIONES QUITSAÑO-ALMIDÓN)

Comparisons for Hinchamiento

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Hinchamiento, Term = Tiempo

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tiempo	N	Mean	Grouping
48	15	480.935	A
24	15	470.402	A
72	15	445.765	A B
9	15	422.511	A B
7	15	415.425	A B C
5	15	389.630	A B C
3	15	344.314	B C D
2	15	302.874	C D
1	15	267.275	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Hinchamiento, Term = Relación Q:A

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Relación Q:A	N	Mean	Grouping
83%A	27	711.569	A
100%A	27	569.616	B
50%Q	27	371.261	C
100%Q	27	157.252	D
83%Q	27	156.486	D

Means that do not share a letter are significantly different.

General Linear Model: Hinchamiento versus Tiempo; Relación Q:A

Method

Factor coding (-1; 0; +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Tiempo	Fixed	9	1; 2; 3; 5; 7; 9; 24; 48; 72
Relación Q:A	Fixed	5	100%A; 100%Q; 50%Q; 83%A; 83%Q

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tiempo	8	662882	82860	8.10	0.000
Relación Q:A	4	6606019	1651505	161.47	0.000
Tiempo*Relación Q:A	32	847334	26479	2.59	0.000
Error	90	920535	10228		
Total	134	9036770			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
101.134	89.81%	84.83%	77.08%

Tukey Simultaneous 95% CIs**Tukey Pairwise Comparisons: Response = Hinchamiento, Term = Tiempo*Relación Q:A**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tiempo*Relación		N	Mean	Grouping
Q:A				
48	83%A	3	963.288	A
24	83%A	3	946.592	A B