

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

Evaluación de la estabilidad y propiedades de hidrogeles de quitosano funcionalizado y almidón de yuca oxidado mediante tratamientos hidrotérmicos

Karen Estefania Coello Palaquibay

Ingeniería Química

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

Quito, 16 de mayo de 2024

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

**Evaluación de la estabilidad y propiedades de hidrogeles de quitosano
funcionalizado y almidón de yuca oxidado mediante tratamientos
hidrotérmicos**

Karen Estefania Coello Palaquibay

Nombre del profesor, Título académico	José Álvarez, PhD
Nombre del profesor, Título académico	José Mora, PhD

Quito, 16 de mayo 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: Karen Estefania Coello Palaquibay

Código: 00211955

Cédula de identidad: 1725999658

Lugar y fecha: Quito, 16 de mayo 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UNPUBLISHED DOCUMENT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

El enfoque principal de este proyecto de investigación es desarrollar hidrogeles mediante el entrecruzamiento de quitosano funcionalizado y almidón de yuca oxidado mediante tratamientos hidrotérmicos. El quitosano se debe funcionalizar previamente con cianoguanidina para que de esta manera haya una mejor estabilidad y duración de los hidrogeles y así se enfrente el problema de la inestabilidad de las bases de Schiff. En lo que respecta al almidón, se obtuvo que la temperatura más favorable para el proceso de oxidación fue la de 140°C por 0.5 horas ($AOx_{140-0.5}$), la funcionalización del quitosano fue más efectivo en ácido acético y en cuanto a la formación de hidrogeles, el mejor resultó ser H_AA_AA. Se hizo análisis FTIR para comprobar tanto la oxidación del almidón como la funcionalización del quitosano. En cuanto a caracterización se realizó un análisis SEM, para ver la estructura morfológica de los hidrogeles. Además, se efectuaron tanto pruebas de hinchamiento como de liberación controlada de fármacos para corroborar la estabilidad y su posible aplicación en biomedicina respectivamente. El mayor grado de hinchamiento se alcanzó para los hidrogeles funcionalizados en ácido acético en comparación con aquellos funcionalizados en ácido clorhídrico. En conclusión, se logró oxidar el almidón, funcionalizar el quitosano y formar hidrogeles con mayor resistencia. Además, se pudo conseguir una liberación más controlada del acetaminofén, resaltando este método, ya que esto no se adquiere fácilmente en los hidrogeles, por lo que puede ser utilizado para otras aplicaciones médicas e incluso con otras formulaciones.

Palabras clave: hidrogeles, entrecruzamiento, almidón oxidado, quitosano, cianoguanidina, acetaminofén, ácido acético, liberación controlada.

ABSTRACT

The main focus of this research project is to develop hydrogels by crosslinking functionalized chitosan and oxidized cassava starch by hydrothermal treatments. The chitosan must be previously functionalized with cyanoguanidine so that in this way there is a better stability and durability of the hydrogels and thus the problem of the instability of the Schiff bases is faced. Regarding starch, it was obtained that the most favorable temperature for the oxidation process was 140°C for 0.5 hours ($AOx_{140-0.5}$), the functionalization of chitosan was more effective in acetic acid and as for the formation of hydrogels, the best turned out to be H_AA_AA. FTIR analysis was performed to check both starch oxidation and chitosan functionalization. In terms of characterization, SEM analysis was performed to see the morphological structure of the hydrogels. In addition, both swelling and controlled drug release tests were performed to corroborate the stability and their potential application in biomedicine, respectively. The highest degree of swelling was achieved for hydrogels functionalized in acetic acid compared to those functionalized in hydrochloric acid. In conclusion, it was possible to oxidize the starch, functionalize the chitosan and form hydrogels with greater resistance. In addition, a more controlled release of acetaminophen could be achieved, highlighting this method, since this is not easily acquired in hydrogels, so it can be used for other medical applications and even with other formulations.

Keywords: hydrogels, crosslinking, oxidized starch, chitosan, cyanoguanidine, acetaminophen, acetic acid, controlled release.

TABLA DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	11
2.	METODOLOGÍA	13
2.1.	Preparación de almidón oxidado	13
2.1.1.	Análisis de grupos carbonilos y carboxilos	13
2.2.	Preparación de quitosano funcionalizado con cianoguanidina	14
2.3.	Preparación de hidrogeles	15
2.3.1.	Prueba de hinchamiento	15
2.3.2.	Encapsulación y liberación de acetaminofén	16
2.4.	Análisis FTIR.....	16
2.5.	Microscopia electrónica de barrido, SEM.....	17
2.6.	Análisis Estadístico	17
3.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	19
3.1.	Oxidación del almidón por métodos hidrotérmicos	19
3.1.1.	Análisis de grupos carbonilos	19
3.1.2.	Análisis FTIR	20
3.1.3.	Análisis de grupos carboxilos	24
3.2.	Funcionalización del Quitosano.....	25
3.3.	Hidrogeles	28
3.3.1.	Análisis FTIR.....	29
3.3.2.	Prueba de Estabilidad	31
3.3.3.	Análisis SEM.....	34

3.3.4. Encapsulación y liberación de acetaminofén	35
3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	37
4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
5. ANEXOS.....	42
5.1. ANEXO A: Almidón oxidado a las distintas condiciones de operación...	42
5.2. ANEXO B: Resultados del análisis estadístico de cuantificación de grupos carbonilos realizados en Minitab.....	45
5.3. ANEXO C: Resultados del análisis estadístico de cuantificación de grupos carboxilos realizados en Minitab	47
5.4. ANEXO D: Funcionalización del quitosano en distintos ácidos (AA y HCl)	49
5.5. ANEXO E: Hidrogeles en sus suspensiones (H ₂ O y AA).....	50
5.6. ANEXO F: Resultados del análisis estadístico de prueba de estabilidad (hinchamiento) en los distintos hidrogeles realizados en Minitab.....	51
5.7. ANEXO G: Curva de calibración del acetaminofén	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Almidón oxidado bajo diferentes condiciones de operación	13
Tabla 2. Formulaciones para los hidrogeles en sus respectivas suspensiones	15
Tabla 3. Resultados obtenidos de la cuantificación de grupos carbonilos [CO/100GU] expresados en notación científica [10^{-1}]	19
Tabla 4. Análisis del almidón en función de la intensidad relativa.....	24
Tabla 5. Resultados obtenidos de la cuantificación de grupos carboxilos [COOH/100GU] expresados en notación científica [10^{-2}].....	24
Tabla 6. Análisis de la funcionalización del quitosano en función de la intensidad relativa	28
Tabla 7. Análisis de la formación de hidrogeles en función de la intensidad relativa ..	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Espectro FTIR del Control y Almidón Oxidado a 140°C en los distintos tiempos de reacción	22
Figura 2. Comparación de espectro FTIR entre el Control y (AOx _{140-0.5}).....	23
Figura 3. Comparación de espectro FTIR entre el Control y (AOx _{140-2.5}).....	23
Figura 4. Comparación de espectro FTIR entre el Control y Quitosano funcionalizado en ácido acético	27
Figura 5. Comparación de espectro FTIR entre el Control y Quitosano funcionalizado en ácido clorhídrico	28
Figura 6. Comparación del espectro FTIR del hidrogel funcionalizado en ácido acético y suspendido tanto en agua destilada como en ácido acético.	29
Figura 7. Comparación del espectro FTIR del hidrogel funcionalizado en ácido clorhídrico y suspendido tanto en agua destilada como en ácido acético.	30
Figura 8. Prueba de estabilidad (hinchamiento) realizado con cada uno de los controles.	32
Figura 9. Prueba de estabilidad (hinchamiento) realizado con cada uno de los hidrogeles.....	33
Figura 10. Micrografía electrónica de barrido del hidrogel H_AA_AA observados a magnificaciones de a) 200x (barra de calibración 100 μm) y b) 500x (barra de calibración 50 μm).....	34
Figura 11. Micrografía electrónica de barrido del hidrogel H_AA_H2O observados a magnificaciones de a) 200x (barra de calibración 100 μm) y b) 500x (barra de calibración 50 μm).....	35
Figura 12. Liberación de acetaminofén del H_AA_AA durante 72 horas	36

1. INTRODUCCIÓN

Los hidrogeles son estructuras tridimensionales de polímeros entrecruzados que tienen la capacidad de absorber y retener grandes cantidades de agua. Su formación implica un proceso llamado "gelificación", que puede llevarse a cabo de dos maneras: por entrecruzamiento físico, por un mecanismo que está basado en la interacción de cadenas poliméricas, o por entrecruzamiento químico, por enlaces covalentes, que se forman durante la reacción entre grupos funcionales. En los hidrogeles físicamente entrelazados, las interacciones pueden ser hidrofóbicas, de enlaces de hidrógeno, electrostáticos o de cristalización [3].

En lo que respecta al entrecruzamiento químico, se destacan las bases de Schiff ya que son capaces de formar enlaces covalentes entre los polímeros, promoviendo así la reticulación de las cadenas poliméricas y por tanto se forma una red tridimensional estable [2]. Las bases de Schiff son compuestos orgánicos que se generan cuando un aldehído o cetona reacciona con una amina primaria o secundaria en un medio acuoso u orgánico. Este proceso da lugar a la formación de un grupo funcional conocido como imina ($-C=N-$), que caracteriza a las bases de Schiff. Esto hace que las bases de Schiff sean fundamentales en el desarrollo de materiales biomédicos y en otras aplicaciones que requieren control preciso sobre la estructura y las propiedades de los materiales [4].

Las bases de Schiff presentan una alta susceptibilidad a la hidrólisis, lo que significa que en presencia de agua los enlaces químicos se rompen. Esto es crucial en la investigación de los hidrogeles, debido a que la rápida hidrólisis de las bases de Schiff puede llevar a la degradación de la red polimérica y, en última instancia, a la desintegración del hidrogel. Esta peculiaridad contribuye a que los hidrogeles elaborados con bases de Schiff experimenten una descomposición prematura,

comprometiendo su capacidad para mantener la estructura deseada y haciendo que su uso en aplicaciones como la liberación controlada de fármacos, sea limitada [6].

En contraste, los hidrogeles elaborados con polisacáridos naturales como el almidón y la celulosa están ganando popularidad entre los investigadores debido a sus propiedades únicas. Estos polisacáridos son biocompatibles, biodegradables y fácilmente disponibles, lo que los hace atractivos para aplicaciones biomédicas y ambientales [1]. Además, la capacidad de los polisacáridos para formar hidrogeles mediante entrecruzamiento químico con bases de Schiff les confiere propiedades características, como la capacidad de retener agua y liberar de manera controlada moléculas bioactivas [5].

El presente trabajo propone una solución novedosa para que la estabilidad de los hidrogeles de almidón oxidado-quitosano mejoren. Para ello, se sugiere realizar una funcionalización previa del quitosano con cianoguanidina, haciendo que los sitios de coordinación de grupos de biguanidina generen una base de Schiff reforzada debido a la resonancia. Esta modificación busca reducir la degradación del hidrogel [8]. De esta manera se lograría desarrollar hidrogeles estables y duraderos a partir del quitosano y el almidón de yuca oxidado. Para alcanzar este objetivo, es crucial comprender y controlar los mecanismos de degradación de los hidrogeles, lo que podría tener un impacto sustancial en la ciencia de materiales biomédicos.

2. METODOLOGÍA

2.1. Preparación de almidón oxidado

Se preparó una solución 10% p/p de almidón de yuca y agua destilada, la misma se colocó en un reactor de síntesis de alta presión en el interior de una mufla, se varió tanto la temperatura como el tiempo de reacción, tal como se puede observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Almidón oxidado bajo diferentes condiciones de operación

	Tiempo (h)		
Temperatura (°C)	0.5	1.5	2.5
110	$AOx_{110-0.5}$	$AOx_{110-1.5}$	$AOx_{110-2.5}$
140	$AOx_{140-0.5}$	$AOx_{140-1.5}$	$AOx_{140-2.5}$
170	$AOx_{170-0.5}$	$AOx_{170-1.5}$	$AOx_{170-2.5}$
200	$AOx_{200-0.5}$	$AOx_{200-1.5}$	$AOx_{200-2.5}$
230	$AOx_{230-0.5}$	$AOx_{230-1.5}$	$AOx_{230-2.5}$

2.1.1. Análisis de grupos carbonilos y carboxilos

Mediante la modificación del protocolo de Argüello [7], se realizó la cuantificación de grupos carbonilos. Para ello, se pesó 4 g de almidón de yuca oxidado seco y se disolvió en 100 mL de agua destilada. La solución se calentó a ebullición durante 35-45 minutos hasta su gelatinización, se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se ajustó el pH a 3.2 con una solución de HCl 0.05M y se añadió 15 mL de una solución de cloruro de hidroxilamina HMC (25g HMC + 100ml NaOH 0.5M, se aforó en 500 ml). La muestra se insertó en un baño maría a 40°C con agitación durante 4 horas. Tras el tiempo establecido, se ajustó nuevamente el pH a 3.2 de la misma manera que antes. Para el

blanco, se siguió el mismo procedimiento, pero utilizando almidón de yuca comercial.

Se determinó el contenido de grupos carbonilos mediante la ecuación (1):

$$\frac{CO}{100GU} = \frac{[(V_{blanco} - V_{solución}) \cdot M \cdot 0.028 \cdot 100]}{\text{peso muestra (g)}} \quad (1)$$

Por otro lado, para el análisis de grupos carboxilos se siguió el protocolo de Paravouri [9], en donde se siguió un procedimiento similar. Se pesó 1 g de almidón de yuca oxidado seco y se disolvió en 60 mL de agua destilada. La solución se calentó hasta su gelatinización y se realizó una titulación con NaOH 0.01M hasta obtener un pH de 8.2. Se determinó el contenido de grupos carboxilos mediante la ecuación (2):

$$\frac{COOH}{100GU} = \frac{[(V_{solución} - V_{blanco}) \cdot M \cdot 0.045 \cdot 100]}{\text{peso muestra (g)}} \quad (2)$$

Para ambos casos M representa la molaridad de cada una de las soluciones, 0.028 y 0.045 son los factores de conversión para el equivalente químico de un gramo de carbonilo y carboxilo, respectivamente.

2.2. Preparación de quitosano funcionalizado con cianoguanidina

Se modificó el protocolo de Veisi [8], se preparó una solución de quitosano tanto en ácido acético al 1.5% v/v como en ácido clorhídrico al 1% v/v. Posterior a ello, se agregó 0.53 g de cianoguanidina. La solución se colocó en un reactor de síntesis de alta presión en el interior de una mufla a una temperatura de 90° por 3 horas. Pasado el tiempo, se precipitó la solución con NaOH para neutralizarlo y después se realizó un lavado con etanol caliente al 96% y con 30 mL de etanol al 50% para eliminar del material la cianoguanidina que no haya reaccionado. Los quitosanos funcionalizados en ácido acético y HCl como medios de reacción fueron etiquetados como Q_CG_AA y Q_CG_HCl, respectivamente.

2.3. Preparación de hidrogeles

Para la formación de los hidrogeles se probó la suspensión de los materiales Q_CG_AA y Q_CG_HCl, tanto en agua como en ácido acético al 1,5 %, resultando un total de 4 suspensiones, las mismas se muestran en la Tabla 2. Estas suspensiones fueron mezcladas con almidón oxidado hasta obtener una masa total polimérica de 2 g (1:1). La muestra se colocó en un baño maría a 60°C y se agitó durante 1 hora. Posteriormente, se separó la parte acuosa de la muestra y se secó la parte sólida a 40°C durante 48 horas.

Tabla 2. Formulaciones para los hidrogeles en sus respectivas suspensiones

Material Q_CG_AA	Material Q_CG_HCl
H_AA_AA	H_HCl_AA
H_AA_H2O	H_HCl_H2O

2.3.1. Prueba de hinchamiento

Se siguió el protocolo propuesto por Quimbiamba [10]. Tras el tiempo indicado, la muestra se extrajo del horno y se redujo su tamaño con un mortero. Se seleccionó un fragmento del hidrogel y se pesó, luego se sumergió en PBS (Buffer Fosfato Salino) a pH 7.4 y se colocó en una incubadora a 37°C. Se pesó la muestra en peso húmedo a intervalos de tiempo de 1, 2, 3, 24, 48 y 72 horas para determinar el grado de hinchamiento y evaluar su estabilidad. Se determinó el porcentaje de hinchamiento mediante la ecuación (3):

$$\%H = \frac{m_t - m_o}{m_o} \times 100\% \quad (3)$$

En donde $\%H$ representa el porcentaje de hinchamiento, m_t la masa del hidrogel en el tiempo establecido y m_o la masa inicial del hidrogel.

2.3.2. Encapsulación y liberación de acetaminofén

La encapsulación se llevó a cabo siguiendo el método propuesto por Garrido et al [11]. Se empleó acetaminofén estándar (Sigma-Aldrich A3035) en una proporción de 5% p/p de fármaco con respecto a la cantidad de polímeros. Este proceso se realizó in situ, lo que significa que el acetaminofén se mezcló con la solución polimérica antes del entrecruzamiento, se permitió que reaccionara y luego se secaron los hidrogeles con el fármaco encapsulado a 40°C.

Para evaluar la liberación, los hidrogeles se colocaron en 2 mL de PBS y se tomaron alícuotas de 100 μL en intervalos de tiempo específicos (1, 2, 3, 4, 6, 24, 48 y 72 horas). Estas alícuotas fueron reemplazadas con solución fresca de PBS, se diluyeron en 2 mL de PBS y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro UV-vis Hanon i5 a 243 nm. Finalmente, se determinó la concentración utilizando la curva de calibración previamente elaborada con soluciones de acetaminofén de concentración conocida, y se calculó el porcentaje de fármaco liberado mediante la ecuación (4):

$$\%L_{ac} = \frac{mac_t - mac_{t-1}}{mac_0} \times 100\% \quad (4)$$

Donde $\%L_{ac}$ indica el porcentaje de liberación que tuvo el acetaminofén, mac_t la masa del acetaminofén en el tiempo establecido, mac_{t-1} la masa del acetaminofén liberado en el tiempo acumulado y mac_0 la masa inicial del acetaminofén.

2.4. Análisis FTIR

La espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier se efectuó para la caracterización de los polímeros e hidrogeles. Para estos análisis se usó el equipo “Cary

630 FTIR Spectrometer” de Agilent. El mismo tiene ATR, y de esta manera se obtiene información sobre la composición y estructura de las muestras.

En primera instancia para la oxidación del almidón se secó la parte sólida de la muestra en un horno a 40°C por 48 horas. Por otro lado, para la funcionalización del quitosano, después de seguir el procedimiento detallado anteriormente, se lavó la muestra 3 veces con etanol caliente al 96% (25 mL c/u) y 5 veces con etanol caliente al 50% (10 mL c/u) para que de esta forma se elimine cualquier residuo de cianoguanidina que pudo haber quedado presente, posterior a ello se seca la muestra en un horno a 40°C por 15 horas. Finalmente, para el caso de los hidrogeles solo se sigue el proceso descrito en la sección anterior. Cabe destacar que para que los análisis sean exitosos, es necesario que cada una de las muestras sean molidas en partículas finas y que la muestra esté seca por completo.

2.5. Microscopia electrónica de barrido, SEM

Este análisis, se llevó a cabo en los hidrogeles, siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. Sin embargo, para el secado de las muestras, se empleó un liofilizador para preservar tanto la estructura como las propiedades del hidrogel, garantizando que cada muestra estuviera en condiciones óptimas para el análisis. El equipo utilizado fue “JEOL JSM-IT 300”, las magnificaciones a las que se observaron las muestras fueron de $\times 200$ y $\times 500$.

2.6. Análisis Estadístico

Los análisis de cada uno de los experimentos realizados fueron ejecutados en triplicado ($n = 3$) y se presentan como el promedio \pm la desviación estándar. Las diferencias significativas se determinaron mediante análisis de varianza (ANOVA), seguido de

comparaciones de pares utilizando el test de Tukey, con un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. Oxidación del almidón por métodos hidrotérmicos

Para la oxidación del almidón se varió el tiempo y la temperatura del proceso tal como se detalla en la Tabla 1. Como variable respuesta del proceso se tiene el número de grupos carbonilos y carboxilos obtenidos después de la oxidación, los cuales son útiles para confirmar si el proceso de oxidación ha sido exitoso. Para la determinación de la variable respuesta, se realizaron análisis FTIR, así como de grupos carbonilos y carboxilos tal como se detalla en la sesión metodología.

En el Anexo A se encuentran las gráficas correspondientes realizadas de este análisis a las distintas condiciones de operación (temperatura y tiempo de reacción) como se señala en la Tabla 1.

3.1.1. Análisis de grupos carbonilos

Después de la inspección de los datos, se determinó que la temperatura de 140°C y el tiempo de 0.5 horas ($AOx_{140-0.5}$) resultó ser la condición óptima para la oxidación con el mayor número de grupos carbonilos ($0.3127 \text{ CO}/100\text{GU}$).

Tabla 3. Resultados obtenidos de la cuantificación de grupos carbonilos [CO/100GU] expresados en notación científica [10^{-1}]

	Tiempo (h)		
Temperatura (°C)	0.5	1.5	2.5
110	3.2 ± 0.04	0.2 ± 0.02	0.08 ± 0.02
140	3.1 ± 0.20	2.5 ± 0.02	2.3 ± 0.02
170	0.4 ± 0.02	1.2 ± 0.04	1.2 ± 0.02
200	1.5 ± 0.02	1.9 ± 0.04	1.6 ± 0.02
230	0.7 ± 0.02	1.7 ± 0.05	1.3 ± 0.04

Se evidencia claramente que a la temperatura más baja (110 °C), la presencia de grupos carbonilos es mínima, pero al ir incrementando de poco a poco la temperatura, la cantidad de grupos carbonilos va en aumento. Sin embargo, cuando se llega a la máxima temperatura (230°C), hay una disminución de estos, indicando que se puede estar formando grupos carboxilos [12], además cabe recalcar que, en esta temperatura, la muestra no solo tiene su proceso de oxidación sino más bien se empieza a quemar.

Por otra parte, la temperatura en donde se encuentra la mayor cantidad de grupos carbonilos es la de 140°C, específicamente a las 0.5 horas, obteniendo un $\frac{CO}{100GU} = 3.1$. Esto se debe principalmente a que cuando se tienen temperaturas bajas, la cinética de la reacción se ralentiza, causando así que los grupos hidroxilo se transformen en grupos carbonilos, lo que permite que haya más acumulación de estos en la estructura del almidón oxidado [13] [14] [15].

Con respecto al análisis estadístico, se evidencia que la temperatura es relevante, ya que al presentar valores de $p = 0.000$, indica que hay una diferencia significativa, por lo que se rechaza la hipótesis nula. En el caso del tiempo, no hay una mayor diferencia significativa. Al realizar el análisis por pares de Tukey, se comprueba que la temperatura de 140°C es la que presenta una media más alta, corroborando una mayor presencia de grupos carbonilos. Con relación a las otras temperaturas (170, 200 y 230°C), no existe una gran diferencia de las medias. Los resultados de estos análisis realizados en Minitab se encuentran mejor detallados en el Anexo B.

3.1.2. Análisis FTIR

En la Figura 1 se presentan los FTIR para el caso donde se varía el tiempo a una temperatura fija. Una ampliación en el rango de $800 - 2600 \text{ cm}^{-1}$, para el caso del $AOx_{140-0.5}$ y del correspondiente control (almidón nativo de yuca sin oxidar) se

presenta en la Figura 2. Se puede ver claramente que destacan picos relevantes en dos bandas características, las mismas son el grupo (C-O) a 1000 cm^{-1} y el grupo (C=O) a 1640 cm^{-1} , el cual indica la presencia de grupos carbonilos. Así mismo, en la Figura 3 se representa a los espectros del $AOx_{140-2.5}$ y del almidón nativo de yuca sin oxidar (Control) en un rango de $800 - 2600\text{ cm}^{-1}$, donde se observa otra banda característica perteneciente al grupo carboxilo (COOH) a 1736 cm^{-1} , señalando la presencia de grupos carboxilos, cuando aumenta el tiempo de oxidación.

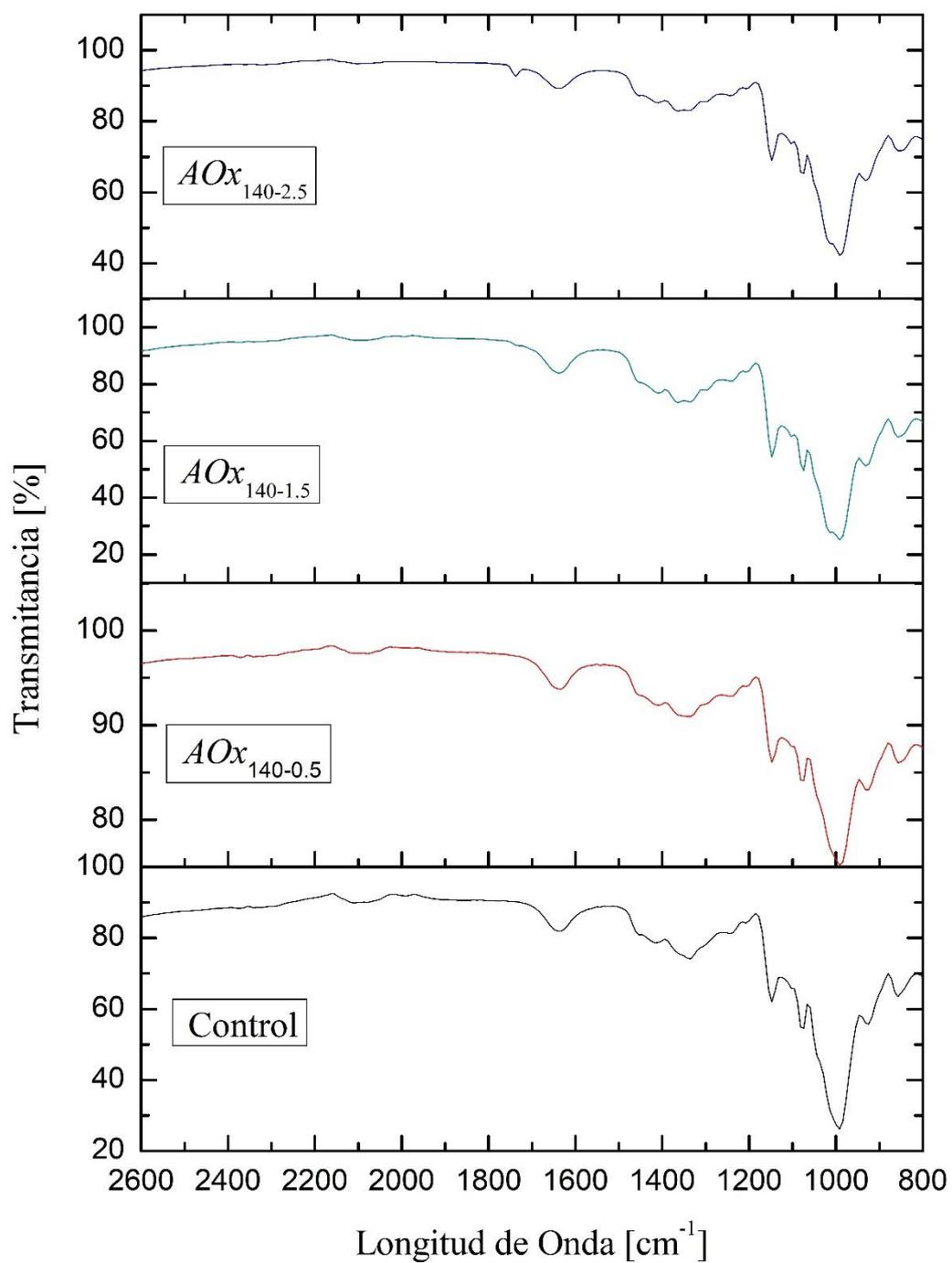


Figura 1. Espectro FTIR del Control y Almidón Oxidado a 140°C en los distintos tiempos de reacción

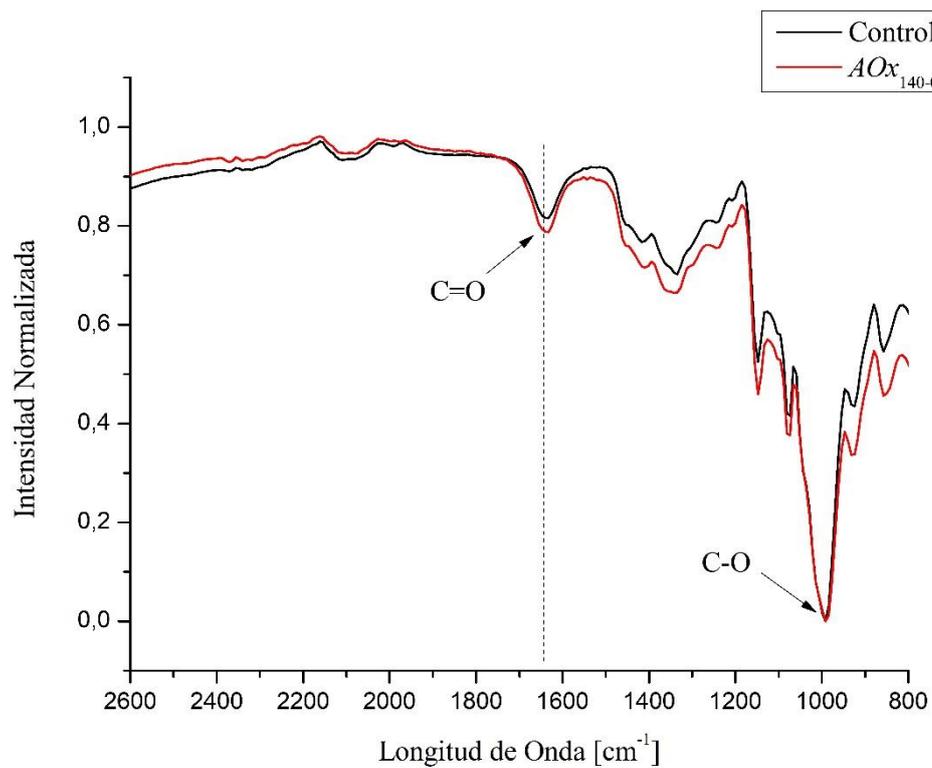


Figura 2. Comparación de espectro FTIR entre el Control y (AOx_{140-0.5})

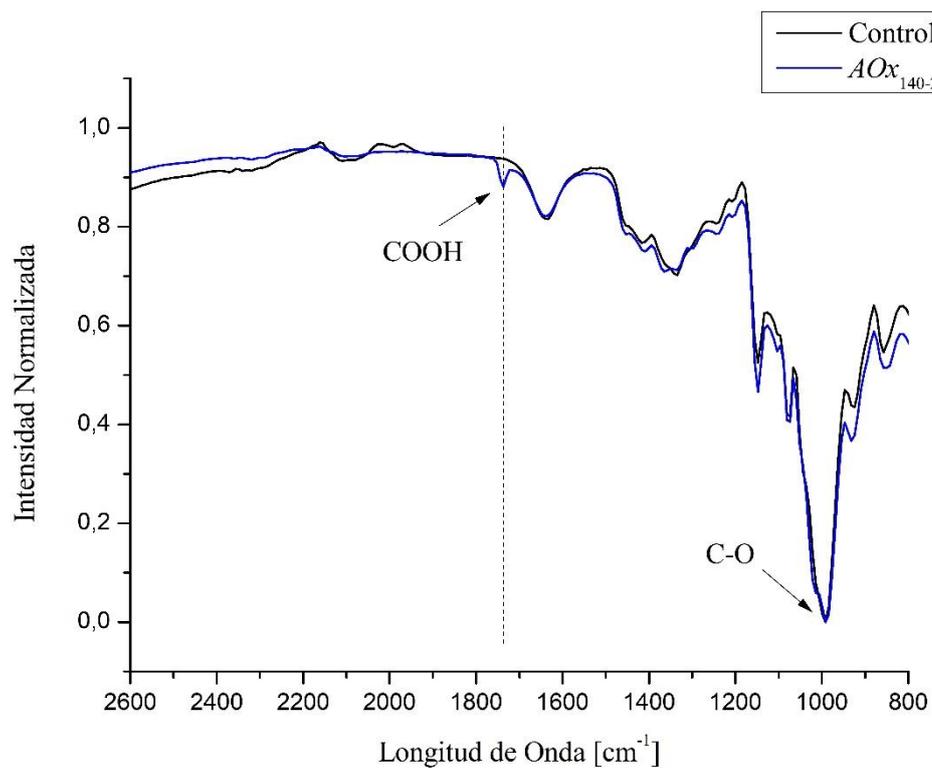


Figura 3. Comparación de espectro FTIR entre el Control y (AOx_{140-2.5})

Por otro lado, para analizar de una manera cuantitativa lo observado visualmente en las Figuras 1-3, se analizó la intensidad relativa de cada uno de los picos discutidos, en donde el porcentaje de la transmitancia para la longitud de onda mayor se divide para el de la longitud de onda menor. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla 4.

Tabla 4. Análisis del almidón en función de la intensidad relativa

Longitud de Onda [cm^{-1}]	[%T]	
	Control	$AOx_{140-0.5}$
1000	0.02	0.02
1640	0.82	0.79
Intensidad Relativa	41	39.5

Como se puede notar, existe una gran diferencia en cuanto al porcentaje de transmitancia en la intensidad relativa del Control y de $AOx_{140-0.5}$, lo que significa que existe una gran presencia de grupos carbonilos en el almidón oxidado (1.25) en comparación con el almidón nativo (2.98).

3.1.3. Análisis de grupos carboxilos

Como parte de la caracterización del material oxidado, se determinó el número de grupos carboxilos, ya que en la Figura 3 se evidencia la existencia de un pico en 1736 cm^{-1} , el cual puede estar asociado a este grupo funcional. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Resultados obtenidos de la cuantificación de grupos carboxilos

[COOH/100GU] expresados en notación científica [10^{-2}]

	Tiempo (h)		
Temperatura (°C)	0.5	1.5	2.5
110	1.4 ± 0.1	2.3 ± 0.1	1.4 ± 0.1
140	1.1 ± 0.3	1.5 ± 0.3	3.5 ± 0.3
170	1.8 ± 0.1	1.7 ± 0.3	0.8 ± 0.3
200	1.5 ± 0.3	1.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1
230	0.8 ± 0.3	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1

En la Tabla 4 se puede ver que la presencia de grupos carboxilos es mucho menor en comparación con la de grupos carbonilos. Esto es bueno, debido a que el propósito de este método de oxidación es tener bases de Schiff estables, por lo que se necesita una mayor cantidad de grupos carbonilos en comparación con carboxilos.

Con el análisis estadístico se obtiene que no existen diferencias significativas entre la mayoría de los grupos con respecto a las medias de la temperatura, lo mismo sucede con respecto al tiempo, a excepción a las 2.5 horas, debido a que en este tiempo el $\frac{COOH}{100GU} = 3.5$ es el mayor. Los resultados de estos análisis realizados en Minitab se encuentran mejor detallados en el Anexo C. Se puede notar que a la temperatura de 140 °C se obtiene mayor formación de grupos carboxilos con el tiempo, lo cual está de acuerdo con lo mostrado en la Figura 3.

3.2. Funcionalización del Quitosano

Para verificar que la funcionalización se haya logrado en los distintos ácidos y después de haber seguido la metodología correspondiente, se realizó análisis FTIR.

En el Anexo D se muestra una gráfica general del quitosano nativo (Control) y del quitosano funcionalizado con cianoguanidina tanto en ácido acético al 1.5% como en

ácido clorhídrico al 1%. De la misma forma se visualiza que existen ciertas diferencias en cada uno de los espectros presentados.

Las Figuras 4 y 5 representan a los espectros del quitosano funcionalizado en ácido acético y en ácido clorhídrico junto con el quitosano nativo en un rango de 800 – 2600 cm^{-1} . Se observa claramente que destacan picos relevantes en dos bandas características, las mismas son el grupo (C-O) a 1000 cm^{-1} y el grupo (C=N) a 1600 cm^{-1} , el cual indica la presencia del grupo imina.

Para ambos casos se evidencia que no existe una banda pronunciada en 2100 cm^{-1} , lo que significa que hay ausencia de grupos nitrilos, sugiriendo así que el proceso de lavado realizado para remover la cianoguanidina sin reaccionar tuvo éxito.

Como es evidente, la mejor funcionalización se da en el ácido acético, ya que hay mayor intensidad en la banda de 1600 cm^{-1} , formando una mayor cantidad de enlaces amida e imida, destacando mejores propiedades mecánicas, así como también mayor estabilidad y resistencia [16] [17]. En contraste, en el ácido clorhídrico, hay menor intensidad en la banda de 1600 cm^{-1} . No obstante, presenta ciertas ventajas, solubiliza al quitosano, proporciona un pH adecuado para que la reacción ocurra y ayuda a que la solubilidad en el agua sea mejor [18].

Ahora bien, en la Figura 5 se puede ver una banda en 1700 cm^{-1} , esto significa que posiblemente se tiene una reacción secundaria de oxidación, teniendo como resultado la formación de grupos carboxilos en el proceso.

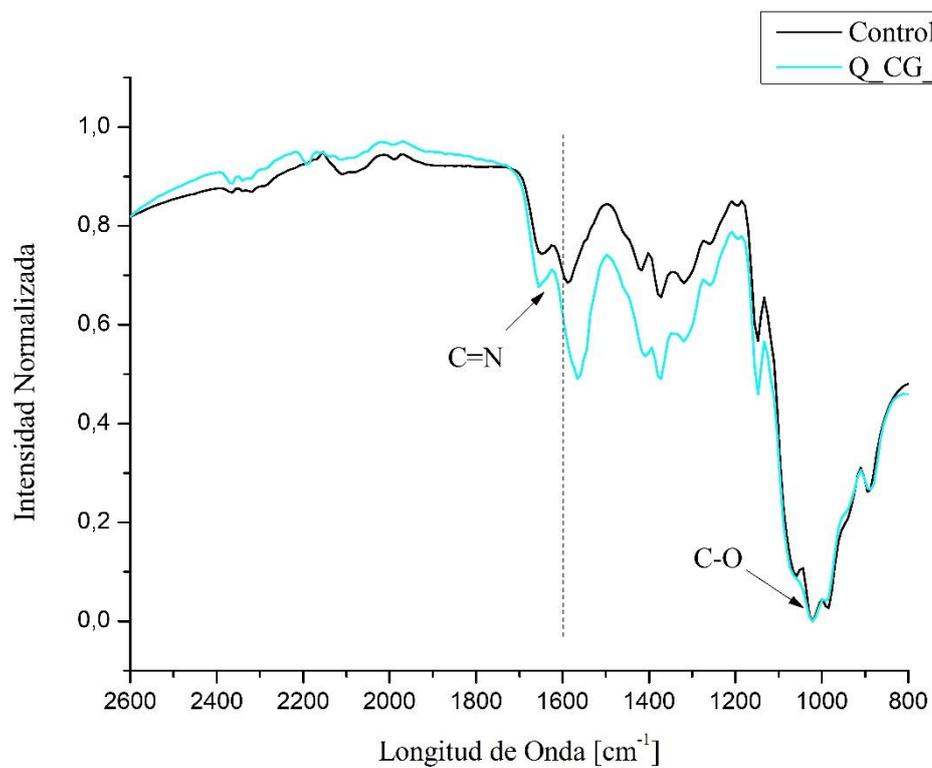


Figura 4. Comparación de espectro FTIR entre el Control y Quitosano funcionalizado en ácido acético

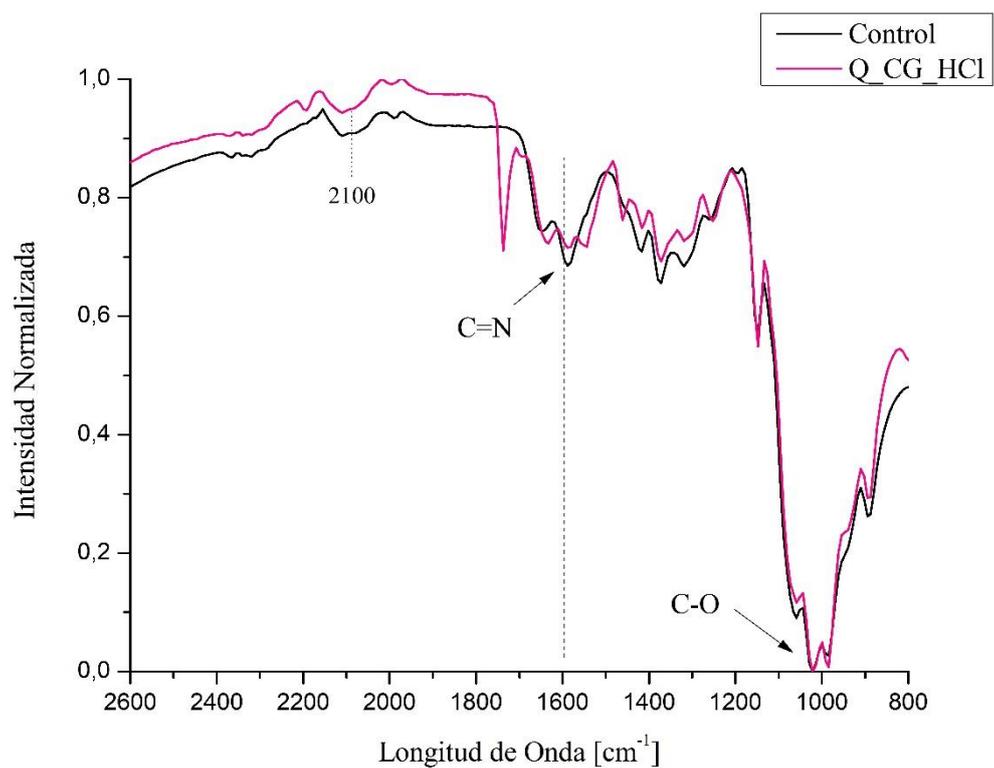


Figura 5. Comparación de espectro FTIR entre el Control y Quitosano funcionalizado en ácido clorhídrico

Otra forma de verificar la funcionalización del quitosano es mediante el análisis de la intensidad relativa de cada uno de los espectros, en donde el porcentaje de la transmitancia de la longitud de onda mayor se divide para el de la longitud de onda menor. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla 6.

Tabla 6. Análisis de la funcionalización del quitosano en función de la intensidad relativa

Longitud de Onda [cm^{-1}]	[%T]		
	Control	Q_CG_AA	Q_CG_HCl
1000	0.043	0.042	0.047
1600	0.75	0.63	0.73
Intensidad Relativa	16.51	13.4	15.53

Como se puede notar, existe un aumento en la intensidad a 1600 cm^{-1} , indicando una vez más que la funcionalización fue exitosa, y que tuvo un mejor resultado en el ácido acético (1.24) en comparación con el ácido clorhídrico (1.30).

3.3. Hidrogeles

La formación de hidrogeles se llevó a cabo por medio del entrecruzamiento del almidón oxidado con el quitosano funcionalizado. Se hizo análisis FTIR para comprobar que el quitosano haya sido funcionalizado, para la caracterización morfológica de los hidrogeles, se realizó un análisis SEM. Se efectuaron tanto pruebas de hinchamiento como de liberación controlada de fármacos para corroborar la estabilidad y su posible aplicación en biomedicina respectivamente.

En el Anexo E se encuentra una gráfica general en donde se muestra a los hidrogeles formados mediante entrecruzamiento y en sus respectivas suspensiones (agua destilada [H₂O] y ácido acético [AA]).

3.3.1. Análisis FTIR

Se puede visualizar que los espectros se encuentran en un rango $800 - 2600 \text{ cm}^{-1}$, y se vuelve a encontrar bandas características pertenecientes al grupo (C-O) a 1000 cm^{-1} , los grupos imina y carbonilo en 1640 cm^{-1} . Esto indica que el entrecruzamiento para formar los hidrogeles fue exitoso.

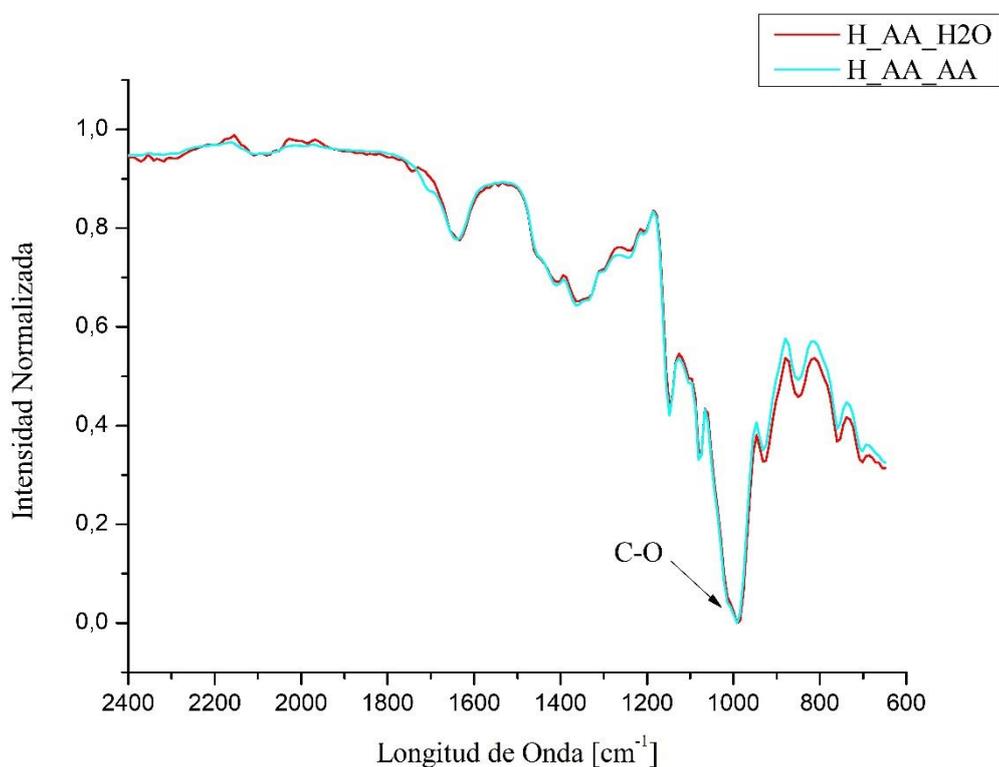


Figura 6. Comparación del espectro FTIR del hidrogel funcionalizado en ácido acético y suspendido tanto en agua destilada como en ácido acético.

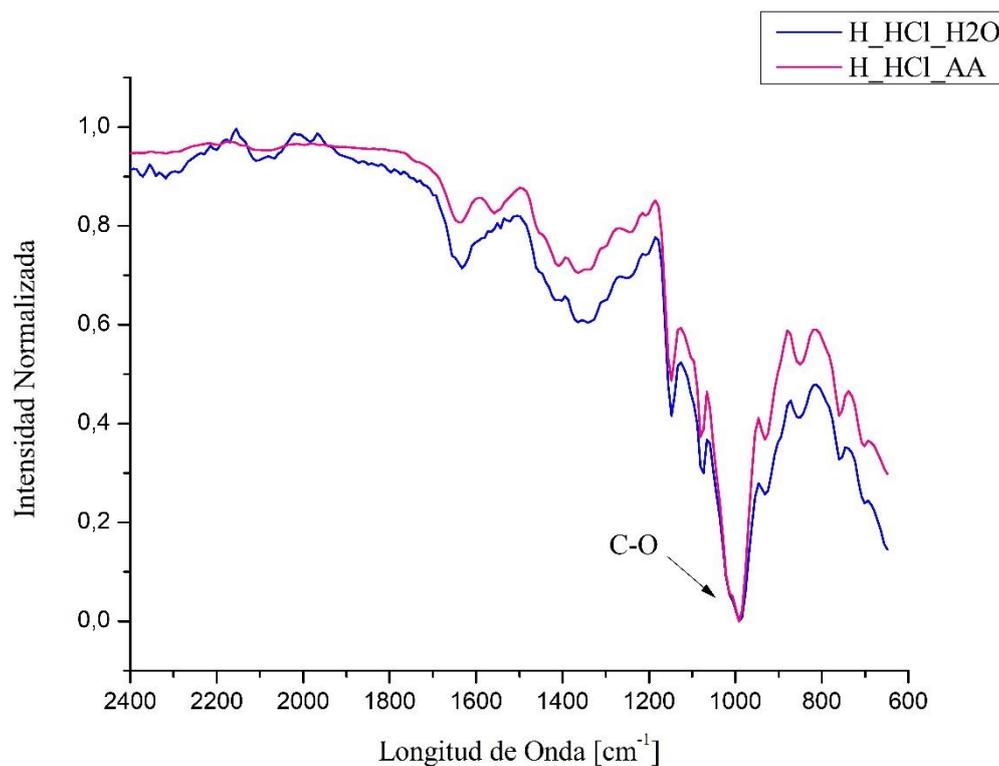


Figura 7. Comparación del espectro FTIR del hidrogel funcionalizado en ácido clorhídrico y suspendido tanto en agua destilada como en ácido acético.

Para mostrar las diferencias existentes en cada uno de los hidrogeles se realizó un análisis de la intensidad relativa, en donde la longitud de onda mayor se divide para la longitud de onda menor del porcentaje de la transmitancia. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla 7.

Tabla 7. Análisis de la formación de hidrogeles en función de la intensidad relativa

Longitud de Onda [cm^{-1}]	[%T]			
	H_AA_H2O	H_AA_AA	H_HCl_H2O	H_HCl_AA
1000	0.024	0.025	0.024	0.029
1640	0.78	0.78	0.72	0.81
Intensidad Relativa	32.5	31.2	30	27.9

Estos resultados nos señalan que en cada uno de los hidrogeles hay presencia de grupos amidas y que el grado de entrecruzamiento fue bueno. Por lo tanto, para las pruebas de estabilidad se decidió trabajar con los 4 hidrogeles, para ver cuál de ellos tiene un mayor grado de hinchamiento.

3.3.2. Prueba de Estabilidad

Esta prueba sirve como parte de caracterización de los hidrogeles y para corroborar que los hidrogeles tengan estabilidad, para ello se siguió la metodología correspondiente y se trabajó para los 4 hidrogeles. Asimismo, se hicieron distintos controles para mostrar las diferencias en cada uno de estos. Los controles fueron etiquetados como Q_A (Quitosano y Almidón nativo), QC_A (Quitosano funcionalizado y Almidón) y Q_AOx (Quitosano y Almidón oxidado).

La Figura 8 muestra los resultados de los controles realizados, en donde se puede mirar que cuando no se oxida el almidón, no hay un hinchamiento presente y sufren una degradación rápida, por lo tanto, esto comprueba una vez más que la oxidación del almidón es necesaria. Por el contrario, el control que si contiene al almidón oxidado tiene un porcentaje de hinchamiento hasta las 72 horas, no obstante, a partir de la segunda hora, este hinchamiento disminuye, debido a una degradación. Esto es relevante, puesto que indica que las bases de Schiff son inestables [2], por lo que, la funcionalización previa del quitosano debe realizarse para que esto no suceda [8].

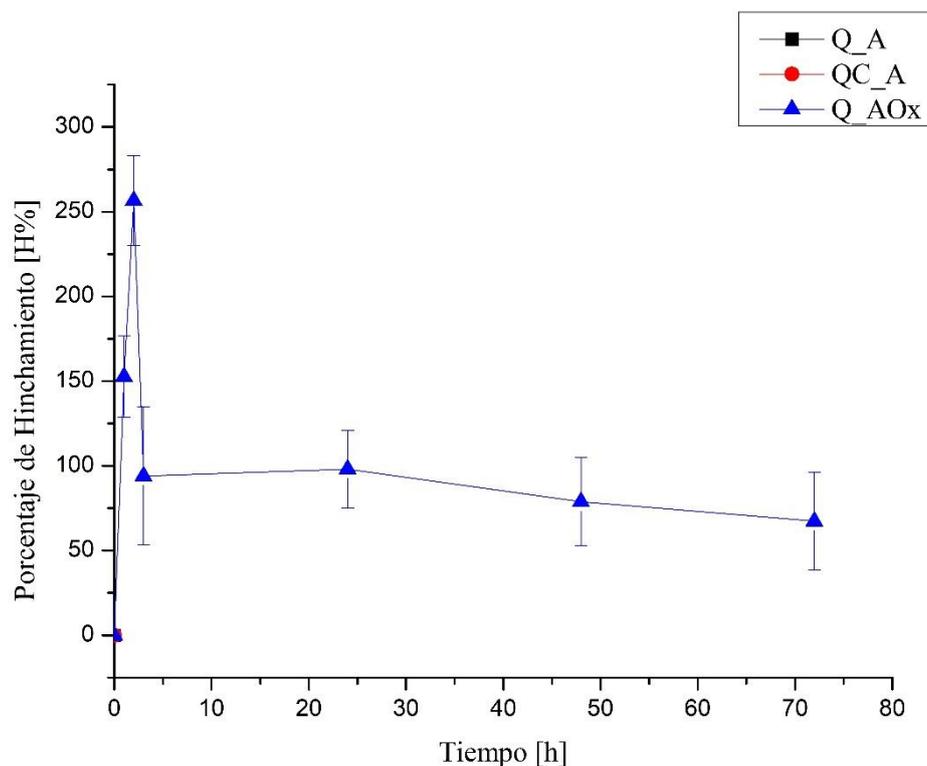


Figura 8. Prueba de estabilidad (hinchamiento) realizado con cada uno de los controles.

Dicho esto, una vez funcionalizado el quitosano en los distintos ácidos y habiendo llevado a cabo sus respectivas suspensiones se realizó la prueba de estabilidad que puede ser visualizada más detenidamente en la Figura 9. Se puede ver claramente que aquellos hidrogeles que fueron funcionalizados en ácido acético no presentan diferencias significativas y tienen un porcentaje de hinchamiento alrededor de 300-350 %, mientras que aquellos hidrogeles que fueron funcionalizados en ácido clorhídrico presenta un menor grado de hinchamiento que es de 250%. Sin embargo, el H_HCl_H2O es el hidrogel que alcanza un mayor grado de hinchamiento hasta las 24 horas, siendo este de 500%, pero después sufre una disminución radical en el porcentaje de hinchamiento, teniendo como resultado un 250%. Esto demuestra una vez más, que el ácido acético es el más efectivo para la funcionalización del quitosano.

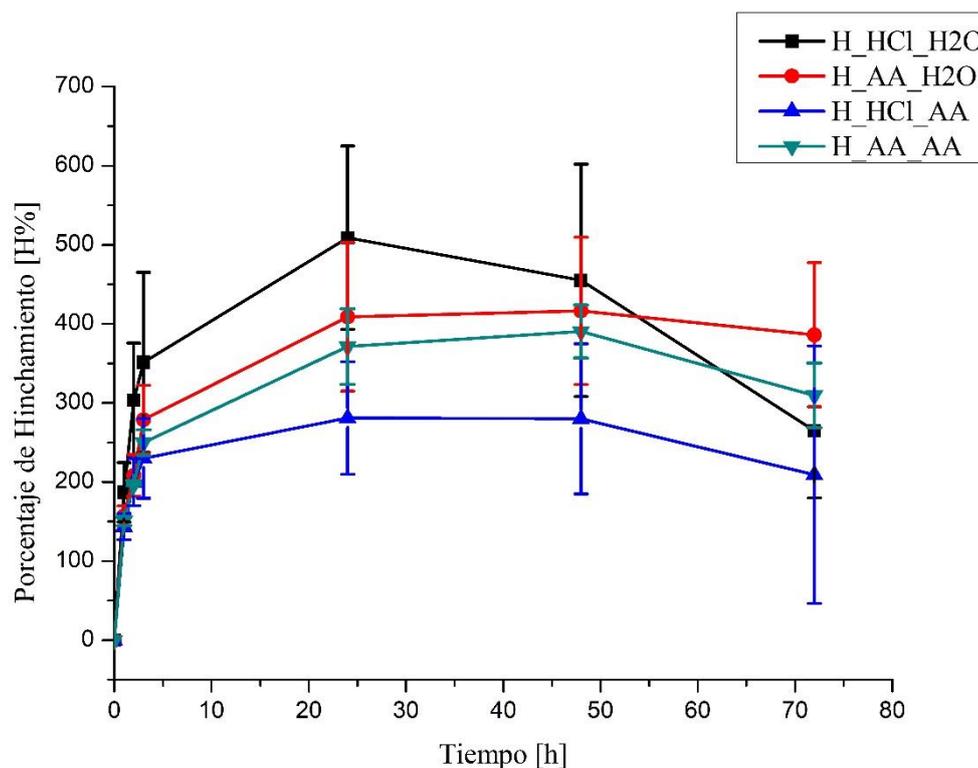


Figura 9. Prueba de estabilidad (hinchamiento) realizado con cada uno de los hidrogeles.

En cuanto al análisis estadístico, se evidencia que tanto el tiempo como la suspensión presentan efectos significativos ya que su $p = 0.000$, rechazando así la hipótesis nula. En contraparte, al analizar la prueba por pares de Tukey se observa que los tiempos de reacción (24, 48, 72 y 3 horas) no tienen diferencias significativas entre sí, mostrando que el mayor grado de hinchamiento se dio a lo largo de este tiempo, y teniendo un mínimo porcentaje de degradación. Sin embargo, si presentan diferencias los tiempos de 1 y 2 horas, que son en donde comenzó el hinchamiento para todos los hidrogeles. En cuanto a la suspensión, H2O se diferencia radicalmente de AA. Por último, el ácido acético presenta una mayor media en cuanto al ácido clorhídrico. Es por ello por lo que, para proceder con la liberación del fármaco, se decidió utilizar al hidrogel (H_AA_AA), ya que es aquel que no presenta mucha diferencia significativa. Los resultados de estos análisis realizados en Minitab se encuentran mejor detallados en el Anexo F.

3.3.3. Análisis SEM

Este análisis sirve para mostrar la caracterización morfológica de los hidrogeles. Se sometieron a esta prueba, aquellos que fueron funcionalizados en ácido acético. Los resultados se pueden mirar en las Figuras 10 y 11 respectivamente.

a)

b)

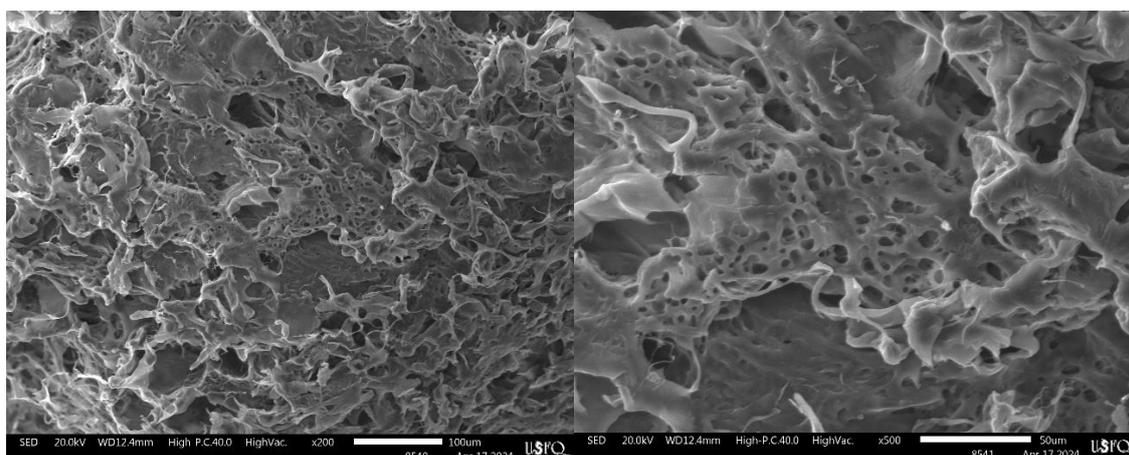


Figura 10. Micrografía electrónica de barrido del hidrogel H_AA_AA observados a magnificaciones de a) 200x (barra de calibración 100 µm) y b) 500x (barra de calibración 50 µm)

a)

b)

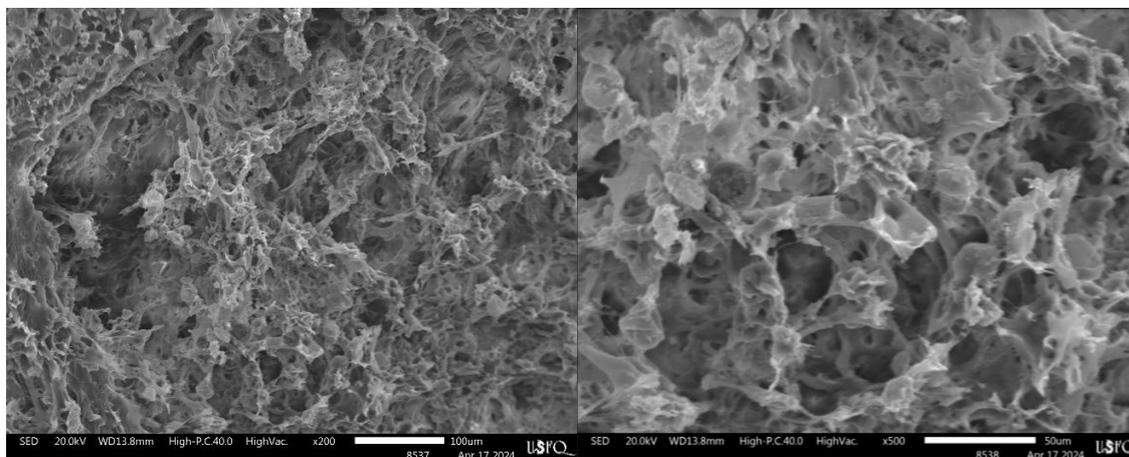


Figura 11. Micrografía electrónica de barrido del hidrogel H_AA_H2O observados a magnificaciones de a) 200x (barra de calibración 100 μm) y b) 500x (barra de calibración 50 μm)

Ambas figuras se asimilan a una estructura como el de un panal de abejas, lo que significa que la red porosa está bien definida. Estos resultados son excelentes, debido a que otros estudios muestran que, al tener la presencia de esta estructura, indica que los poros se interconectan mediante la red tridimensional y permitiendo que el agua condensada sea estabilizada [19][20]. También se puede observar que el tamaño de los poros varía, siendo algunos medianos y otros un poco más grandes, esto es esencial, ya que esto posibilita que moléculas grandes puedan pasar fácilmente, lo que es beneficioso para aplicaciones de biomedicina, como en este caso, la liberación controlada de fármacos [21][22].

3.3.4. Encapsulación y liberación de acetaminofén

Se decidió trabajar con el mejor hidrogel (H_AA_AA), ya que no presentó diferencias significativas con (H_AA_H2O) y su grado de hinchamiento se mantuvo estable. El resultado de la liberación se muestra a continuación.

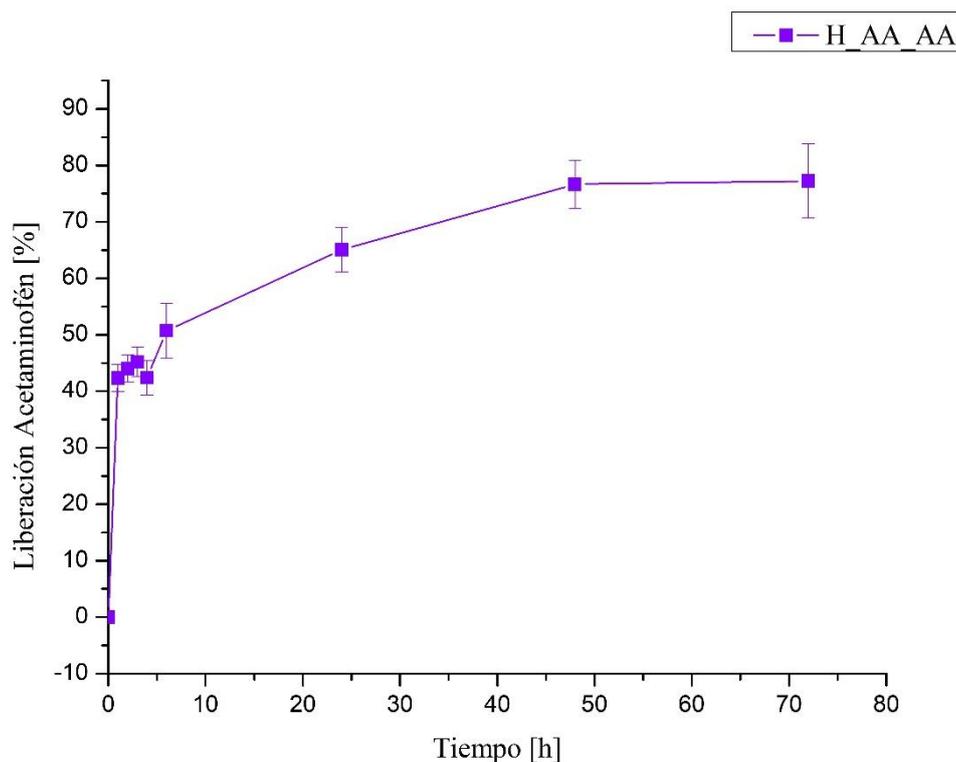


Figura 12. Liberación de acetaminofén del H_AA_AA durante 72 horas

Como se puede divisar en la Figura 12, el porcentaje máximo de liberación alcanzado fue del 80%. Las primeras 4 horas muestran que la liberación del acetaminofén fue progresiva y el porcentaje liberado fue menor al que se ha observado en trabajos previos, es decir, que se está logrando liberar controladamente al fármaco. A las 72 horas, se pudo observar una pequeña disminución, esto se puede atribuir al grado de hinchamiento presentado en la prueba de estabilidad. Asimismo, la interacción entre los polímeros o el análisis morfológico realizado podría haber influir en la velocidad de la liberación del fármaco después de las 24 horas [22]. Por otro lado, el acetaminofén contiene grupos hidroxilo y amida, significando así que los mismos pueden tener la capacidad de interactuar con los grupos presentes en los polímeros, como es el caso de los hidroxilo y amina, contribuyendo a que la velocidad de la liberación se reduzca [23] [24].

3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La oxidación del almidón tuvo éxito, siendo las mejores condiciones de operación (140°C a 0.5 horas). Lo mismo sucedió con la funcionalización del quitosano, en donde se observó que el ácido más efectivo es el acético. Por último, en el entrecruzamiento realizado con el almidón oxidado y el quitosano funcionalizado para la formación de hidrogeles se obtuvo que el mejor hidrogel fue H_AA_AA, debido a que en la prueba de estabilidad fue el que no tuvo un cambio significativo, en la caracterización morfológica mostró una porosidad grande y en cuanto a la liberación de acetaminofén logró alcanzar un 80%. Además, en este caso, se logró obtener una liberación controlada del fármaco en comparación con trabajos previos, esto es importante, ya que, en los hidrogeles esto es muy difícil de que suceda.

Para un trabajo a futuro se recomienda complementar la caracterización de los materiales con otras pruebas como análisis elemental y también mejorar la liberación del acetaminofén, esto podría darse con otras formulaciones.

4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] E. M. Ahmed, “Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review”, *Journal of Advanced Research*, vol. 6, núm. 2. Elsevier B.V., pp. 105–121, 2015. doi: 10.1016/j.jare.2013.07.006.
- [2] X. Ding, G. Li, C. Xiao, y X. Chen, “Enhancing the Stability of Hydrogels by Doubling the Schiff Base Linkages”, *Macromol Chem Phys*, vol. 220, núm. 3, feb. 2019, doi: 10.1002/macp.201800484.
- [3] Fabbrizzi L. Beauty in Chemistry: Making Artistic Molecules with Schiff Bases. *J Org Chem*. 2020 Oct 2;85(19):12212-12226. doi: 10.1021/acs.joc.0c01420.
- [4] M. Qamruzzaman, F. Ahmed, y M. I. H. Mondal, “An Overview on Starch-Based Sustainable Hydrogels: Potential Applications and Aspects”, *Journal of Polymers and the Environment*, vol. 30, núm. 1. Springer, pp. 19–50, el 1 de enero de 2022. doi: 10.1007/s10924-021-02180-9.
- [5] W. Wang, R. Narain, y H. Zeng, “Hydrogels”, en *Polymer Science and Nanotechnology: Fundamentals and Applications*, Elsevier, 2020, pp. 203–244. doi: 10.1016/B978-0-12-816806-6.00010-8.
- [6] J. Xu, Y. Liu, y S. hui Hsu, “Hydrogels based on schiff base linkages for biomedical applications”, *Molecules*, vol. 24, núm. 16. MDPI AG, el 19 de agosto de 2019. doi: 10.3390/molecules24163005.
- [7] E. Argüello-García, J. Solorza-Feria, J. R. Rendón-Villalobos, F. Rodríguez-González, A. Jiménez-Pérez, y E. Flores-Huicochea, “Properties of edible films based on oxidized starch and zein”, *Int J Polym Sci*, vol. 2014, 2014, doi: 10.1155/2014/292404.

- [8] H. Veisi, M. Ghadermazi, y A. Naderi, “Biguanidine-functionalized chitosan to immobilize palladium nanoparticles as a novel, efficient and recyclable heterogeneous nanocatalyst for Suzuki-Miyaura coupling reactions”, *Appl Organomet Chem*, vol. 30, núm. 5, pp. 341–345, may 2016, doi: 10.1002/aoc.3437.
- [9] Parovuori P, Hamunen A, Forssell P, Autio K, Poutanen K. Oxidation of Potato Starch by Hydrogen Peroxide. *Starch - Stärke*. 1995.
- [10] M. Gabriela, Q. Garzón, N. Del Profesor, T. Académico, J. Álvarez, y J. Mora, “Formación de hidrogeles de pectina y quitosano utilizando ácido succínico como agente entrecruzante para la liberación controlada de acetaminofén”, 2022. [En línea]. Disponible en: <http://bit.ly/COPETheses>
- [11] C. A. Garrido, M. Vargas, and J. F. Alvarez-Barreto, “Auto-Cross-Linking Hydrogels of Hydrogen Peroxide-Oxidized Pectin and Gelatin for Applications in Controlled Drug Delivery,” 2019, doi: 10.1155/2019/9423565.
- [12] Y. Zhang, S. Zhang, X. Wang, R. Chen, and Y. Wang, “Effect of carbonyl content on the properties of thermoplastic oxidized starch,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 78, no. 1, pp. 157–161, Aug. 2009, doi: 10.1016/j.carbpol.2009.04.023.
- [13] J. P. Wojeicchowski, G. De Andrade De Liandra Siqueira, L. G. Lacerda, E. Schnitzler, and I. M. Demiate, “Physicochemical, structural and thermal properties of oxidized, acetylated and dual-modified common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) starch,” *Food Science and Technology*, vol. 38, no. 2, pp. 318–327, Mar. 2018, doi: 10.1590/1678-457x.04117.
- [14] S. Zhang, Y. Zhang, X. Wang, and Y. Wang, “High carbonyl content oxidized starch prepared by hydrogen peroxide and its thermoplastic application,”

- Stärke/Starch*, vol. 61, no. 11, pp. 646–655, Nov. 2009, doi: 10.1002/star.200900130.
- [15] Y. Zhang, X. Wang, G. Zhao, and Y. Wang, “Preparation and properties of oxidized starch with high degree of oxidation,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 87, no. 4, pp. 2554–2562, Mar. 2012, doi: 10.1016/j.carbpol.2011.11.036.
- [16] J. D. Giraldo and B. L. Rivas, “Direct ionization and solubility of chitosan in aqueous solutions with acetic acid,” *Polymer Bulletin*, vol. 78, no. 3, pp. 1465–1488, Mar. 2020, doi: 10.1007/s00289-020-03172-w.
- [17] T. Y. A. Essel et al., “Chitosan composites synthesized using acetic acid and tetraethylorthosilicate respond differently to methylene blue adsorption,” *Polymers*, vol. 10, no. 5, p. 466, Apr. 2018, doi: 10.3390/polym10050466.
- [18] X. Zhao, Z.-Z. Qiao, and J. He, “Preparation of chitosan biguanidine hydrochloride and application in antimicrobial finish of wool fabric,” *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, vol. 5, no. 3, p. 155892501000500, Sep. 2010, doi: 10.1177/155892501000500303.
- [19] C. Cui, Y. Tian, Y. Shi, R. Tang, and F. Xi, “Porous polymer films and honeycomb structures based on amphiphilic dendronized block copolymers,” *Langmuir*, vol. 21, no. 14, pp. 6576–6581, Jun. 2005, doi: 10.1021/la050187d.
- [20] M. H. Alotaibi, G. A. El-Hiti, H. Hashim, A. S. Hameed, D. S. Ahmed, and E. Yousif, “SEM analysis of the tunable honeycomb structure of irradiated poly (vinyl chloride) films doped with polyphosphate,” *Heliyon*, vol. 4, no. 12, p. e01013, Dec. 2018, doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e01013.
- [21] A. Ramírez, J. L. Benítez, L. R. De Astudillo, and B. R. De Gáscue, “Materiales Polimeros de tipo hidrogeles: revisión sobre su caracterización mediante FTIR, DSC, MEB y MET,” *Revista Latinoamericana De Metalurgia Y Metales*, vol.

- 36, no. 2, pp. 108–130, Jan. 2016, [Online]. Available: <http://ve.scielo.org/pdf/rlmm/v36n2/art02.pdf>
- [22] S. Mohanto et al., “Advancements in gelatin-based hydrogel systems for biomedical applications: A state-of-the-art review,” *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 253, p. 127143, Dec. 2023, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127143.
- [23] M. Sadeghi, F. Soleimani, and M. Yarahmadi, “Controlled Release of Acetaminophen from CMC-Based Hydrogels,” *ORIENTAL JOURNAL OF CHEMISTRY*, vol. 27, no. 3, Aug. 2011, [Online]. Available: https://orientjchem.org/pdf/vol27no3/OJC_Vol27_No3_p_895-902.pdf
- [24] M. Suhail et al., “Designing and in vitro characterization of pH-Sensitive Aspartic Acid-Graft-Poly (Acrylic acid) hydrogels as controlled drug carriers,” *Gels*, vol. 8, no. 8, p. 521, Aug. 2022, doi: 10.3390/gels8080521.

5. ANEXOS

5.1. ANEXO A: ALMIDÓN OXIDADO A LAS DISTINTAS CONDICIONES DE OPERACIÓN

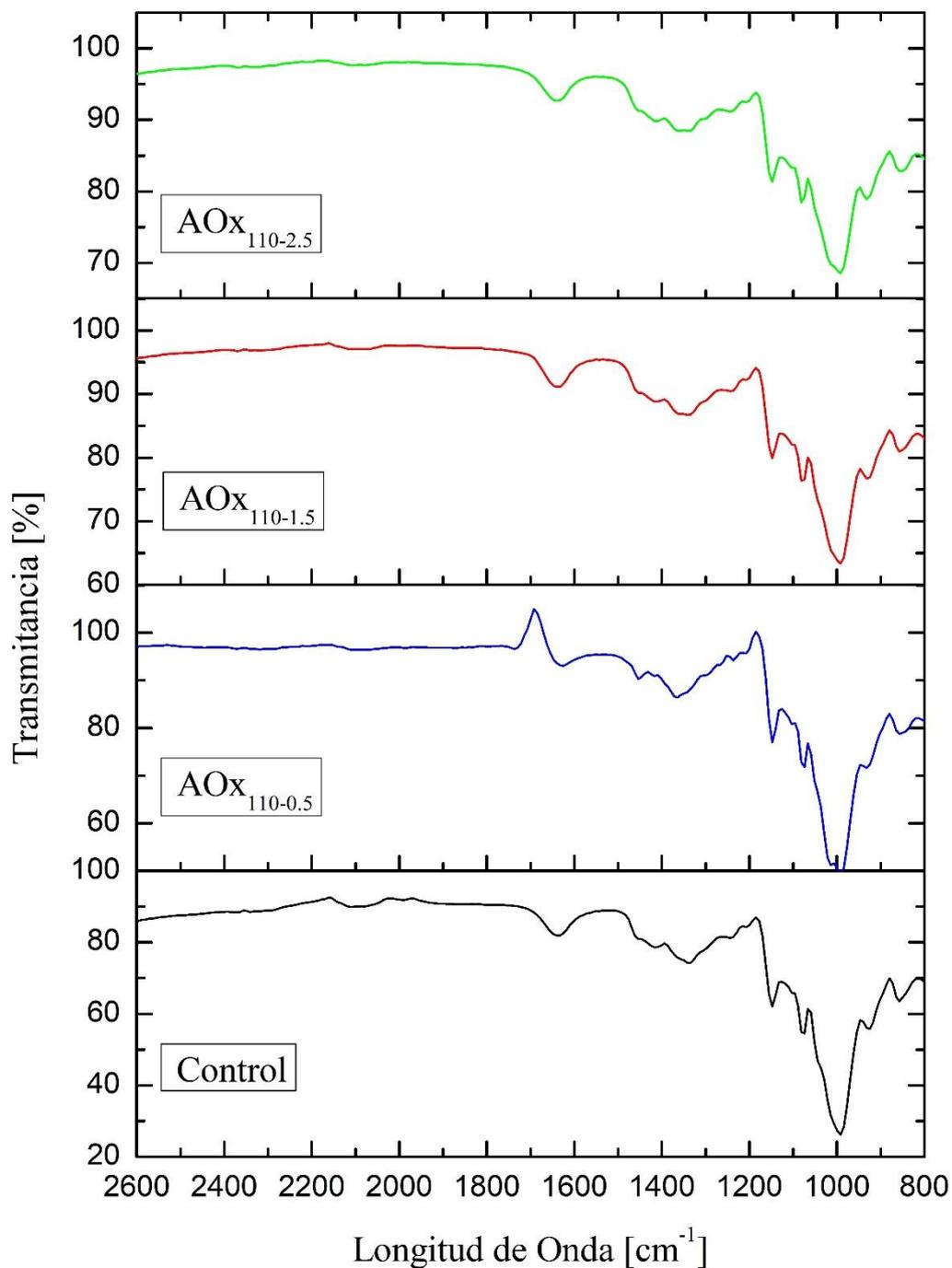


Figura 13. Espectro FTIR del Control y Almidón Oxidado a 110°C en los distintos tiempos de reacción.

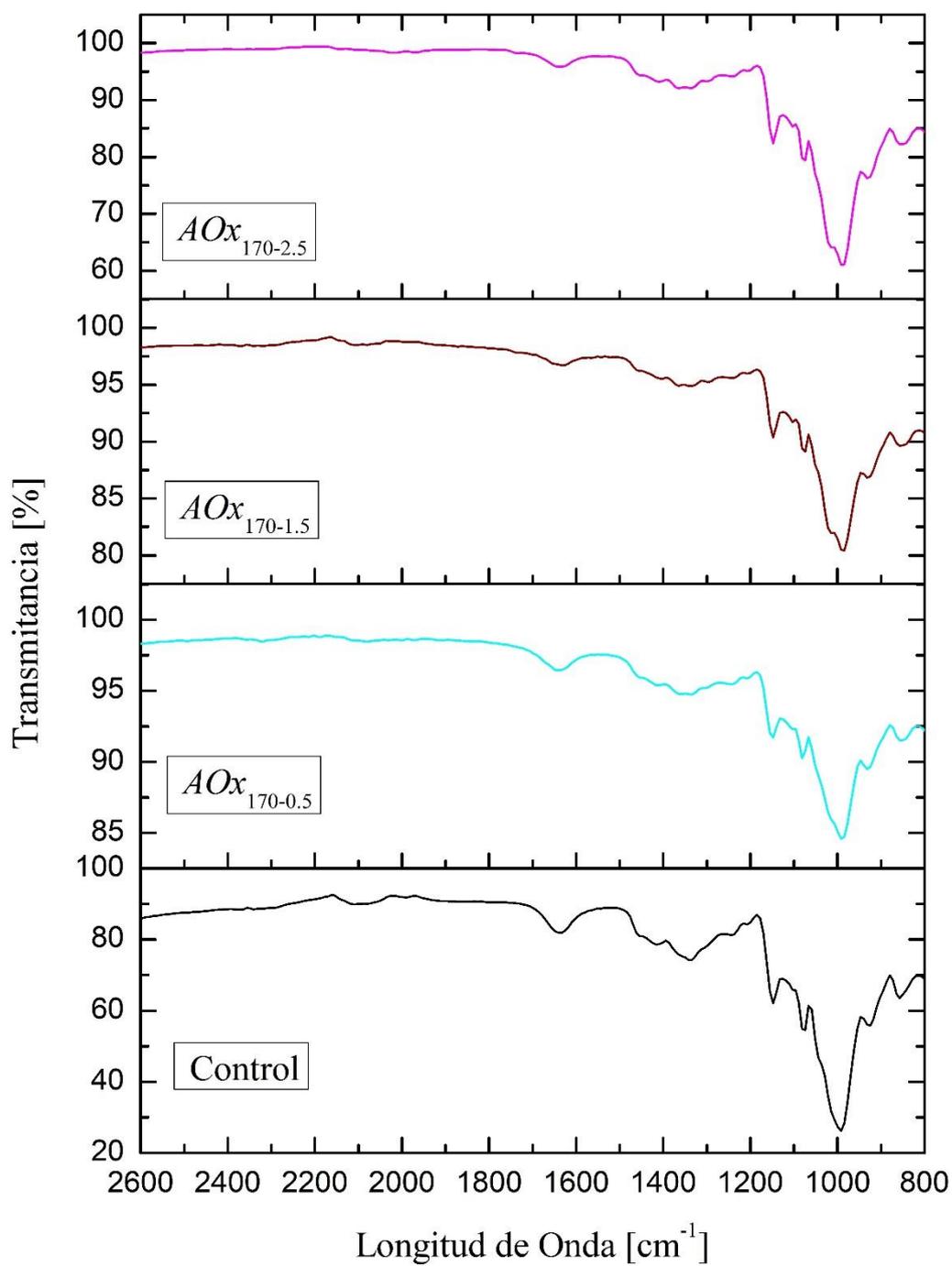


Figura 14. Espectro FTIR del Control y Almidón Oxidado a 170°C en los distintos tiempos de reacción.

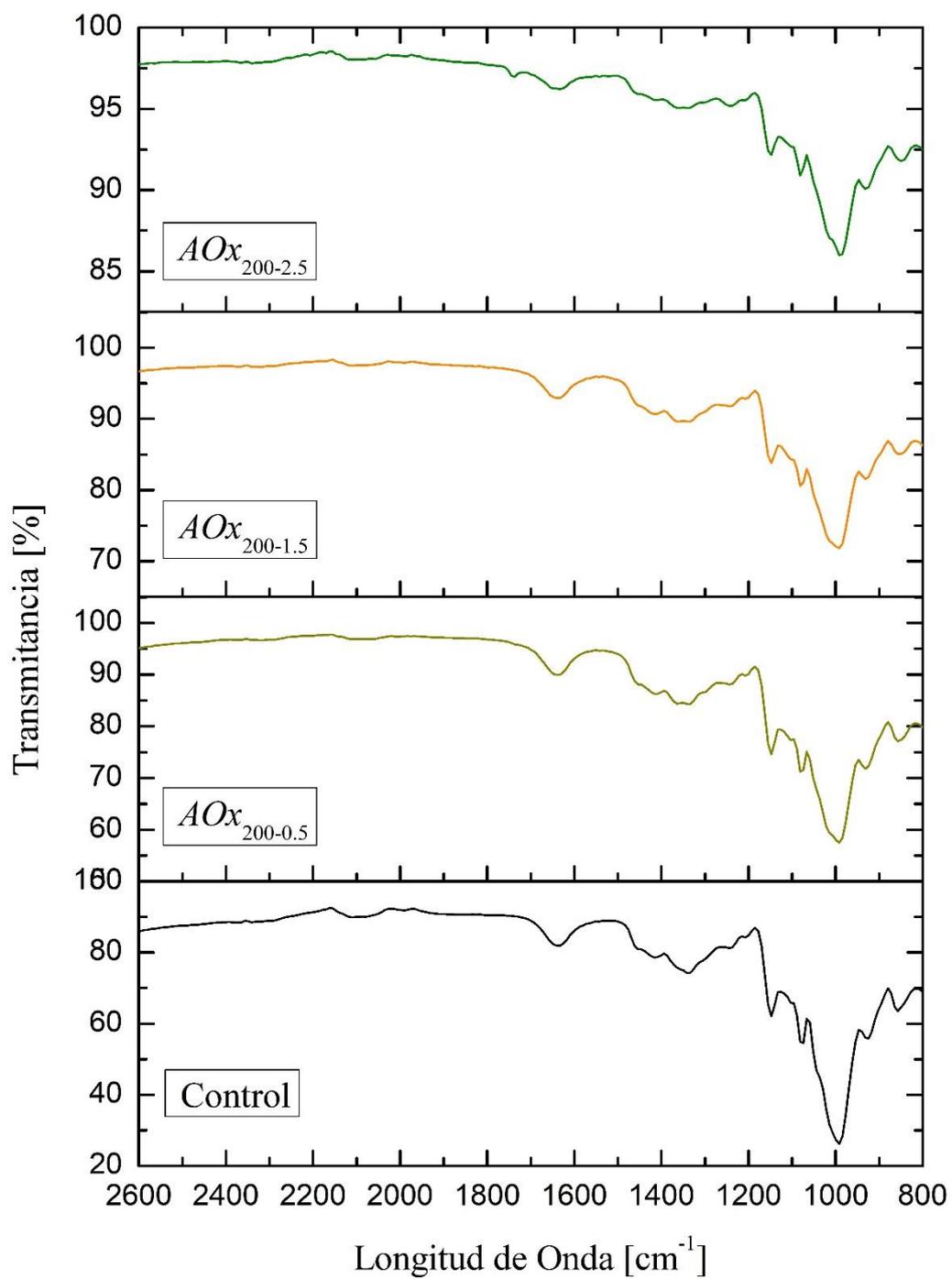


Figura 15. Espectro FTIR del Control y Almidón Oxidado a 200°C en los distintos tiempos de reacción.

5.2. ANEXO B: RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE CUANTIFICACIÓN DE GRUPOS CARBONILOS REALIZADOS EN MINITAB

General Linear Model: %CO/100GU versus Temperatura; Tiempo

Method

Factor coding (-1; 0; +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Temperatura	Fixed	5	110; 140; 170; 200; 230
Tiempo	Fixed	3	0,5; 1,5; 2,5

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Temperatura	4	0,266400	0,066600	59,95	0,000
Tiempo	2	0,006509	0,003255	2,93	0,066
Error	38	0,042213	0,001111		
Lack-of-Fit	8	0,038914	0,004864	44,23	0,000
Pure Error	30	0,003299	0,000110		
Total	44	0,315123			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0333297	86,60%	84,49%	81,21%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	0,13424	0,00497	27,02	0,000	
Temperatura					
110	-0,10158	0,00994	-10,22	0,000	1,60
140	0,12864	0,00994	12,95	0,000	1,60
170	-0,04052	0,00994	-4,08	0,000	1,60
200	0,02909	0,00994	2,93	0,006	1,60
Tiempo					
0,5	-0,01524	0,00703	-2,17	0,036	1,33
1,5	0,01416	0,00703	2,01	0,051	1,33

Regression Equation

$$\begin{aligned} \%CO/100GU = & 0,13424 - 0,10158 \text{ Temperatura}_{110} + 0,12864 \text{ Temperatura}_{140} \\ & - 0,04052 \text{ Temperatura}_{170} + 0,02909 \text{ Temperatura}_{200} - 0,01563 \text{ Temperatura}_{230} \\ & - 0,01524 \text{ Tiempo}_{0,5} + 0,01416 \text{ Tiempo}_{1,5} + 0,00109 \text{ Tiempo}_{2,5} \end{aligned}$$

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	%CO/100GU	Fit	Resid	Std Resid	
12	0,3360	0,2476	0,0884	2,88	R

R Large residual

Comparisons for %CO/100GU**Tukey Pairwise Comparisons: Response = %CO/100GU, Term = Temperatura**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Temperatura	N	Mean	Grouping
140	9	0,262889	A
200	9	0,163333	B
230	9	0,118611	B C
170	9	0,093722	C
110	9	0,032667	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs**Tukey Pairwise Comparisons: Response = %CO/100GU, Term = Tiempo**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tiempo	N	Mean	Grouping
1,5	15	0,148400	A
2,5	15	0,135333	A
0,5	15	0,119000	A

Means that do not share a letter are significantly different.

5.3. ANEXO C: RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE CUANTIFICACIÓN DE GRUPOS CARBOXILOS REALIZADOS EN MINITAB

General Linear Model: %COOH/100GU versus Temperatura; Tiempo

Method

Factor coding (-1; 0; +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Temperatura	Fixed	5	110; 140; 170; 200; 230
Tiempo	Fixed	3	0,5; 1,5; 2,5

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Temperatura	4	0,001030	0,000258	10,15	0,000
Tiempo	2	0,000606	0,000303	11,93	0,000
Error	38	0,000965	0,000025		
Lack-of-Fit	8	0,000870	0,000109	34,54	0,000
Pure Error	30	0,000094	0,000003		
Total	44	0,002601			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0050388	62,91%	57,05%	47,98%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	0,014000	0,000751	18,64	0,000	
Temperatura					
110	0,00250	0,00150	1,66	0,104	1,60
140	0,00600	0,00150	3,99	0,000	1,60
170	0,00000	0,00150	0,00	1,000	1,60
200	0,00000	0,00150	0,00	1,000	1,60
Tiempo					
0,5	0,00370	0,00106	3,48	0,001	1,33
1,5	0,00130	0,00106	1,22	0,229	1,33

Regression Equation

$$\begin{aligned} \%COOH/100GU = & 0,014000 + 0,00250 \text{ Temperatura_110} + 0,00600 \text{ Temperatura_140} \\ & + 0,00000 \text{ Temperatura_170} + 0,00000 \text{ Temperatura_200} - 0,00850 \text{ Temperatura_230} \\ & + 0,00370 \text{ Tiempo_0,5} + 0,00130 \text{ Tiempo_1,5} - 0,00500 \text{ Tiempo_2,5} \end{aligned}$$

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	%COOH/100GU	Fit	Resid	Std Resid	
10	0,03600	0,02370	0,01230	2,66	R
12	0,03600	0,02370	0,01230	2,66	R

R Large residual

Comparisons for %COOH/100GU**Tukey Pairwise Comparisons: Response = %COOH/100GU, Term = Temperatura**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Temperatura	N	Mean	Grouping
140	9	0,0200	A
110	9	0,0165	A
170	9	0,0140	A
200	9	0,0140	A
230	9	0,0055	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs**Tukey Pairwise Comparisons: Response = %COOH/100GU, Term = Tiempo**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tiempo	N	Mean	Grouping
0,5	15	0,0177	A
1,5	15	0,0153	A
2,5	15	0,0090	B

Means that do not share a letter are significantly different.

5.4. ANEXO D: FUNCIONALIZACIÓN DEL QUITOSANO EN DISTINTOS ÁCIDOS (AA Y HCL)

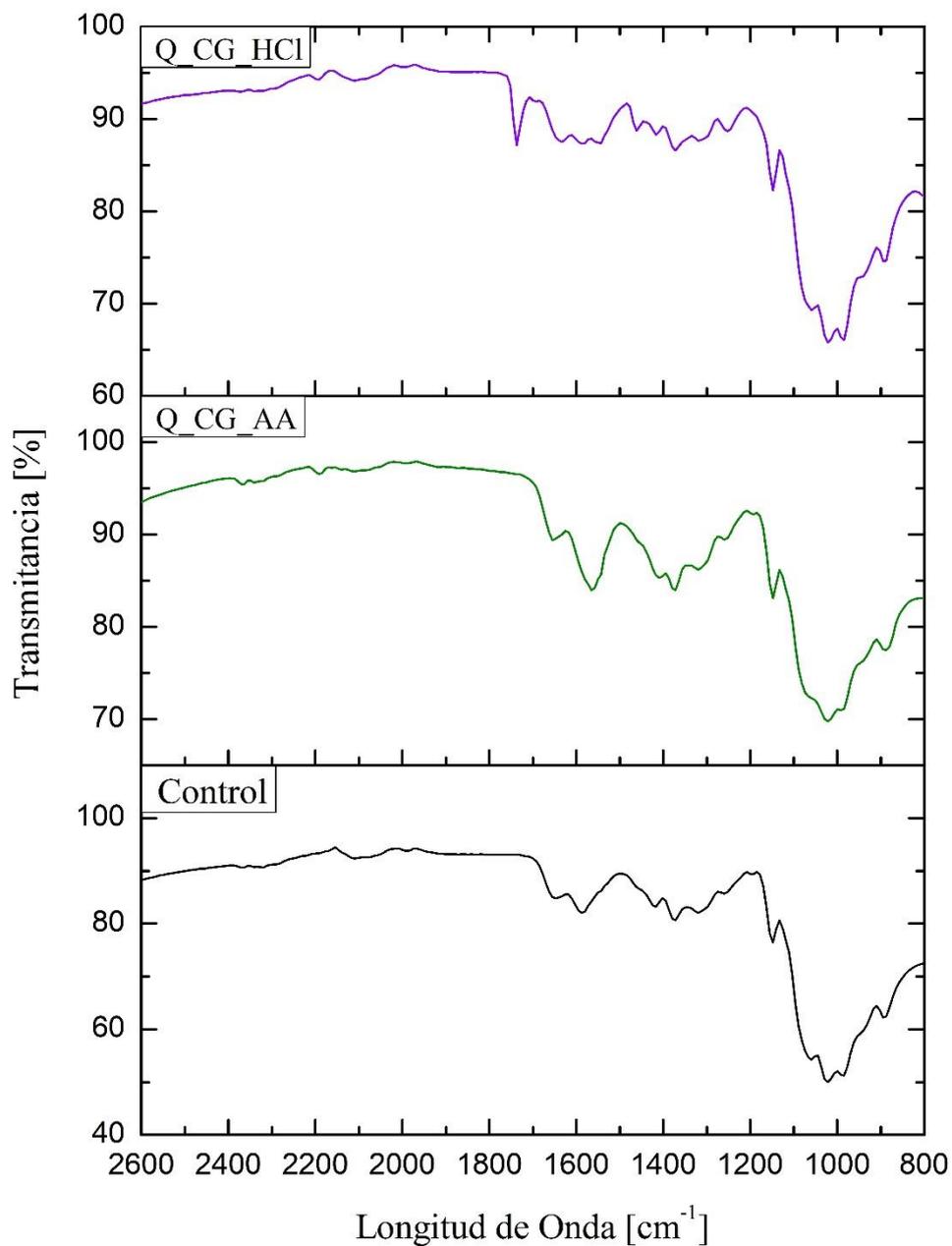


Figura 16. Espectro FTIR del Control y Quitosano funcionalizado en los distintos ácidos

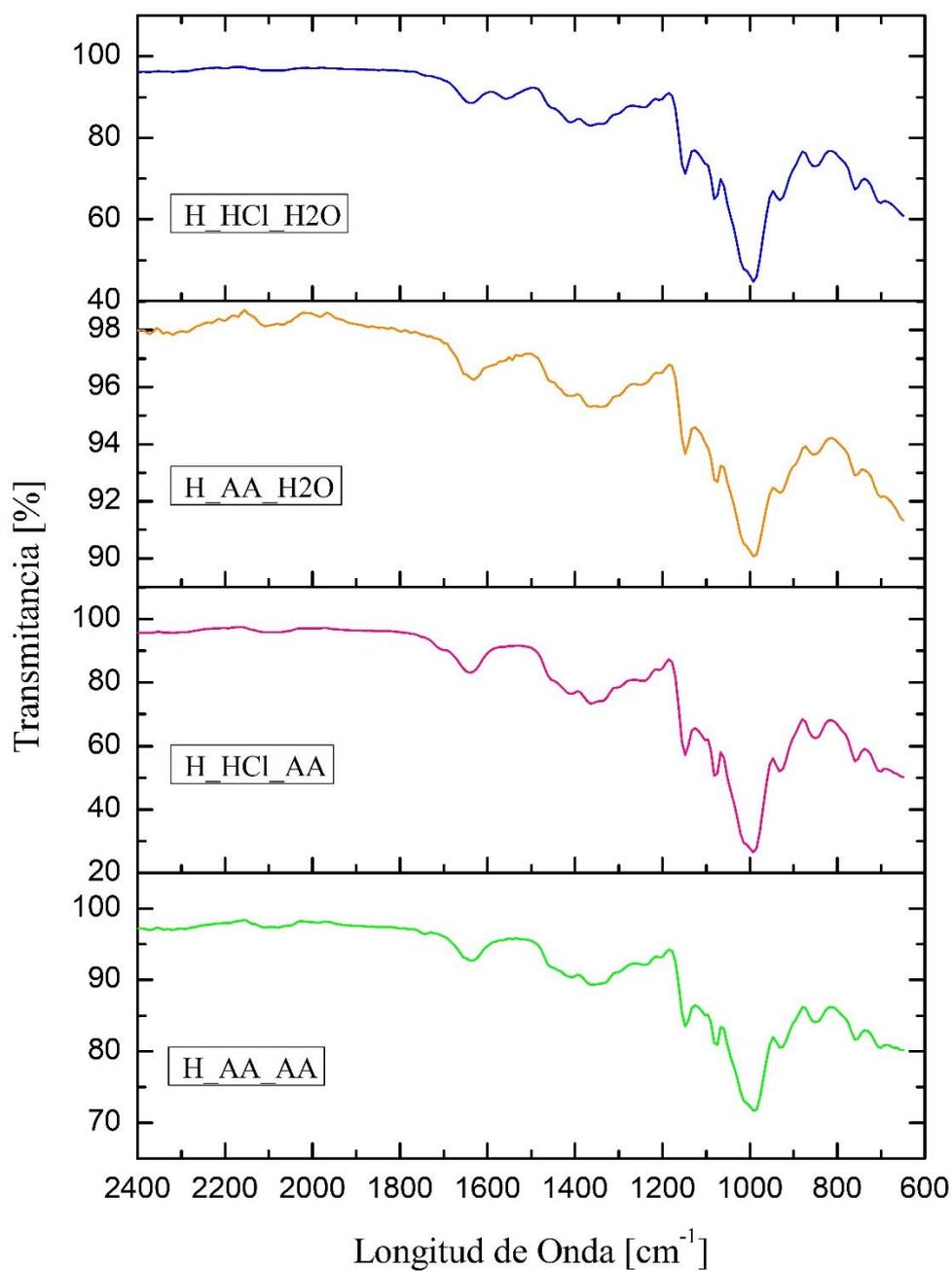
5.5. ANEXO E: HIDROGELES EN SUS SUSPENSIONES (H2O Y AA)

Figura 17. Espectro FTIR de los hidrogeles formados en sus respectivas suspensiones

**5.6. ANEXO F: RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE PRUEBA
DE ESTABILIDAD (HINCHAMIENTO) EN LOS DISTINTOS
HIDROGELES REALIZADOS EN MINITAB**

General Linear Model: Hinchamiento versus Tiempo; Ácido; Suspensión

Method

Factor coding (-1; 0; +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Tiempo	Fixed	6	1; 2; 3; 24; 48; 72
Ácido	Fixed	2	AA; HCl
Suspensión	Fixed	2	AA; H2O

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tiempo	5	332321	66464	10,97	0,000
Ácido	1	2349	2349	0,39	0,537
Suspensión	1	85219	85219	14,06	0,000
Error	46	278787	6061		
Lack-of-Fit	16	94513	5907	0,96	0,517
Pure Error	30	184274	6142		
Total	53	702419			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
77,8497	60,31%	54,27%	45,43%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	287,0	10,7	26,79	0,000	
Tiempo					
1	-124,0	23,7	-5,24	0,000	1,67
2	-57,8	23,7	-2,44	0,019	1,67
3	-9,6	23,7	-0,41	0,686	1,67
24	98,3	23,7	4,15	0,000	1,67
48	91,9	23,7	3,88	0,000	1,67
Ácido					
AA	6,7	10,7	0,62	0,537	1,01
Suspensión					
AA	-40,2	10,7	-3,75	0,000	1,01

Regression Equation

$$\begin{aligned} \text{Hinchamiento} = & 287,0 - 124,0 \text{ Tiempo}_1 - 57,8 \text{ Tiempo}_2 - 9,6 \text{ Tiempo}_3 + 98,3 \text{ Tiempo}_{24} \\ & + 91,9 \text{ Tiempo}_{48} + 1,3 \text{ Tiempo}_{72} + 6,7 \text{ Ácido_AA} - 6,7 \text{ Ácido_HCl} \\ & - 40,2 \text{ Suspensión_AA} + 40,2 \text{ Suspensión_H2O} \end{aligned}$$

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	Hinchamiento	Fit	Resid	Std Resid	
8	590,9	418,8	172,1	2,40	R
10	559,1	412,4	146,7	2,05	R
37	173,6	332,1	-158,5	-2,19	R
40	35,6	241,5	-205,9	-2,85	R

R Large residual

Comparisons for Hinchamiento

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Hinchamiento, Term = Tiempo

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tiempo	N	Mean	Grouping
24	9	385,297	A
48	9	378,919	A
72	9	288,369	A B
3	9	277,402	A B
2	9	229,201	B C
1	9	162,990	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Hinchamiento, Term = Ácido

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Ácido	N	Mean	Grouping
AA	24	293,700	A
HCl	30	280,359	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Hinchamiento, Term = Suspensión

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Suspensión	N	Mean	Grouping
H2O	24	327,204	A
AA	30	246,855	B

Means that do not share a letter are significantly different.

5.7. ANEXO G: CURVA DE CALIBRACIÓN DEL ACETAMINOFÉN

Concentración [mg/mL]	Absorbancia
0.0308	1.88395
0.025	1.60535
0.02	1.31875
0.015	0.965525
0.01	0.658175
0.005	0.337225

