



Universidad de Carabobo
Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología
Dirección de Postgrado
Doctorado en Química Tecnológica



EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL α Y β QUITOSANO, COMO UN BIOADHESIVO APLICABLE SOBRE UN SOPORTE CELULÓSICO

AUTOR: Lic. Alied José Romero Serrano

TUTOR Dr. Juan Carlos Pereira Antique

*Tesis Doctoral para optar por el título de
Doctor en Química Tecnológica*

Valencia - Venezuela
Febrero 2024



Universidad de Carabobo
Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología
Dirección de Postgrado
Doctorado en Química Tecnológica



EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL α Y β QUITOSANO, COMO UN BIOADHESIVO APLICABLE SOBRE UN SOPORTE CELULÓSICO

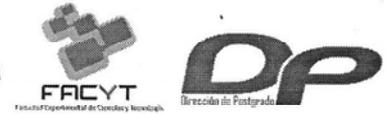
AUTOR: Lic. Alíed José Romero Serrano

TUTOR Dr. Juan Carlos Pereira Antique

**Valencia - Venezuela
Febrero 2024**



Universidad de Carabobo
Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología
Dirección de Postgrado



ACTA DE VEREDICTO

Hoy 14 de febrero de 2024, a las 11:30 a.m., reunidos en el Departamento de Química de la Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología de la Universidad de Carabobo, presentes los ciudadanos: Dra. Ingrid Velásquez, Dr. Arnaldo Armado, Dra. Blanca Rojas de Gascue, Dr. Manuel Fermín y Dr. Juan Carlos Pereira A., de nacionalidad venezolana, mayores de edad, hábiles en 10230195, 11809738, 6524681, 14350608 y 11183899, respectivamente, docentes/investigadores de la Universidad de Carabobo, Universidad Central de Venezuela y Universidad de Oriente, con domicilio en Venezuela, se levanta la presente Acta de Constitución del Jurado designado por el Consejo de Postgrado en sesión N° 08/2022 de fecha 25/11/2022 y notificados formalmente el 30/11/2022 para evaluar la Tesis Doctoral, presentada por la ciudadana Allied José Romero Serrano, cédula de identidad No.V- 12785653, titulada: "**Evaluación de las Propiedades Funcionales del α y β Quitosano, como un Bioadhesivo Aplicable sobre un Sustrato Celulósico**", se levanta la presente Acta de Veredicto del Jurado para dejar constancia de los siguientes particulares: **PRIMERO:** El Presidente del Jurado ciudadano Dr. Juan Carlos Pereira A., plenamente identificado, después de oír los planteamientos hechos por los miembros del Jurado sobre la evaluación de la precitada Tesis Doctoral, ya identificada, y estando dentro del lapso legal establecido en el artículo 150 del Reglamento de los Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo, se acuerda por unanimidad: **APROBAR, la Tesis Doctoral**, titulado: **Evaluación de las Propiedades Funcionales del α y β Quitosano, como un Bioadhesivo Aplicable sobre un Sustrato Celulósico**", presentada por la ciudadana Allied José Romero Serrano, cédula de identidad No. 12785653, **SEGUNDO:** Notifíquese al Consejo de Facultad y Consejo de Postgrado de la Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología de la Universidad de Carabobo, de la presente decisión. No habiendo más nada que tratar, se da por terminado a los 14 días del mes de febrero del año 2024. Es todo, se leyó y conformes firman.

Dra. Ingrid Velásquez
C.I.10230195
Miembro del Jurado

Dra. Blanca Rojas de Gascue
C.I.6524681
Miembro del Jurado



Dr. Arnaldo Armado
C.I.11809738
Miembro del Jurado

Dr. Manuel Fermín
C.I.14350608
Miembro del Jurado

Dr. Juan Carlos Pereira A.
C.I. 11183899
Presidente del Jurado



Universidad de Carabobo
Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología
Dirección de Postgrado
Doctorado en Química Tecnológica



Dr. Juan Carlos Pereira
Profesor Titular del Departamento de Química
Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología
Universidad de Carabobo

Certifica:

Que la ciudadana Lic. Alied José Romero Serrano, ha desarrollado bajo mi dirección, el trabajo que lleva por título: **EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL α Y β QUITOSANO, COMO UN BIOADHESIVO APLICABLE SOBRE UN SOPORTE CELULÓSICO**, expuesto en la presente memoria, para optar al Título de Doctor en Química Tecnológica. Línea de Investigación: Fenómenos Interfaciales, y considero que dicha tesis reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometida a la presentación pública y evaluación por parte del jurado examinador que se designe.

Juan Carlos Pereira Antique

En la ciudad de Valencia, a los 14 días del mes de Febrero del 2024

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi hijo Christopher ya que mi mayor deseo es que mis logros puedan inspirarte y dejar en ti una huella para que cuando crezcas, comprendas lo valioso del conocimiento científico. Con sólo tres añitos aún no descubres esto, pero cuando puedas entenderlo, espero que disfrutes mucho el estudiar y alcanzar tus objetivos y sueños. Te amo con todo mi corazón.

Deseo que este trabajo sirva de ejemplo a mis queridos sobrinos: Luis Eduardo, María Fernanda, Isabella y Fabian para que siempre busquen superarse y alcanzar sus metas. El límite lo colocan Uds., el mundo está abierto a disfrutar de sus talentos, sólo atrevanse a mostrarlos y disfruten hacerlo con pasión y responsabilidad.

A mi adorada abuelita Chocha, Sósima Adelina, quien es un nuevo ángel en el cielo, que me ama y siempre ha estado muy orgullosa de mí. Te extraño cada día.

En especial, dedico este nuevo logro a mi amada Madre Carmen Alicia, a quien Dios necesitó entre sus ángeles, antes de yo culminar este proyecto. Sé que estás feliz por mí, me has acompañado y siempre estás mi lado, muy orgullosa, como solías decirme. Te amaré y honraré siempre mamá.

AGRADECIMIENTOS

Ante todo, agradezco a Dios por brindarme la oportunidad de tener salud, disfrutar de mi familia y de mi pasión por el estudio, el trabajo y la investigación.

ACADEMICOS / PROFESIONALES

A la Universidad de Carabobo y a la Facultad Experimental de Ciencias Tecnológicas (FACYT), por permitirme participar en este programa de Doctorado en Química Tecnológica y por todo el apoyo profesional brindado en pro de no detenernos ante las adversidades.

A mi profesor y tutor Dr. Juan Carlos Pereira por ser conmigo ante todo un gran ser humano y motivarme en todo momento para culminar mi proyecto. Sus ideas, enorme paciencia y sobre todo su apoyo incondicional, fueron el motor de alta potencia que me mantuvo inspirada.

Al Dr. Jimmy Castillo, por su apoyo para realizar las mediciones de fuerza de adhesión empleando el equipo Microscopio de Fuerza Atómica (MFA), en el Laboratorio de Espectroscopia Láser, de la Escuela de Química en la Facultad de Ciencias de la UCV.

A la Lic. Nexi Peraza y al Dr. Henry Labrador quienes me brindaron todo el apoyo administrativo durante mi desempeño como estudiante del Doctorado.

A la empresa Kuresa S.A por capacitarme para utilizar sus equipos de laboratorio, en especial el equipo de tracción, y por permitirme realizar los experimentos dentro de sus instalaciones con toda libertad.

Un especial agradecimiento al Dr. José Marcano por su apoyo y orientación para llevar a cabo el estudio estadístico de los resultados obtenidos. Su vocación por la enseñanza es admirable.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mi familia, porque siempre he sentido su apoyo con la más profunda sinceridad y amor.

A mis padres Carmen Alicia y Eduardo José, quienes siempre han estado presentes con su amor y apoyo incondicional. Valoro y agradezco su compromiso con mis estudios desde el primer día y me siento complacida por llenarlos de satisfacciones y que se sientan orgullosos de mí.

En especial a mis hermanos Anaís y Pedro quienes ven en mí a una super heroína, pero no soy más que una luchadora, incansable estudiante y amante de la investigación aplicada. Gracias por el apoyo y todos los abrazos que necesitaré siempre para dar lo mejor mí en todos mis proyectos de vida.

Incluyo además a mis cuñados Mary Anaís y Luis, quienes son unos maravillosos e incondicionales seres humanos. Gracias por estar presentes en nuestros más afectuosos episodios de vida.

A mi esposo Hussein, quien me motiva y acompaña en mis grandes desafíos. Tu paciencia, amor y apoyo, lo reconoceré y valoraré toda la vida. Eres un ángel que me mantiene activa, creativa y sobre todo feliz. Hemos llegado juntos al final de este camino lleno de largas noches y fines de semana de mucho esfuerzo y dedicación con este proyecto, y aunque nos quedan muchos planes para nuestro futuro, te prometo que nos sentaremos a planificarlos con mucha tranquilidad. Durante este camino, hemos vivido también el nacimiento de nuestro hermoso hijo Christopher y sé que juntos lo mantendremos motivado con nuestros ejemplos, para que también alcance y disfrute de sus éxitos académicos.

Un especial agradecimiento a Desirée, compañera y doctora de este programa, quien ha tomado mi mano y me ha llenado de energías motivadoras para cerrar con éxito este proyecto. Gracias prima por esas nutridas conversaciones y tu apoyo incondicional. A mi amigo Ericson, siempre tan caballero, un excelente compañero y amigo sincero e incondicional, estoy segura que el tiempo pasará y sé que siempre estarás allí para una buena conversación.

A todos, mi más sincero respeto y agradecimiento por estar...



Universidad de Carabobo
Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología
Dirección de Postgrado
Doctorado en Química Tecnológica



EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL α Y β QUITOSANO, COMO UN BIOADHESIVO APLICABLE SOBRE UN SOPORTE CELULÓSICO

Autor: Lic. Alied José Romero Serrano

Tutor: Dr. Juan Carlos Pereira Antique

Febrero 2024

RESUMEN

En esta investigación se realizó el estudio de las fuerzas de adhesión entre dos tipos de quitosanos α y β puros y funcionalizados, aplicados sobre un soporte de grado industrial, fabricado a partir de fibras de alfa celulosa. El quitosano es el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza luego de celulosa, y las estructuras moleculares de sus isómeros, se distinguen únicamente por el carbono anomérico C1 de la unidad de glucosa (D-glucopiranos). Ambos polisacáridos de alta pureza y elevado grado de desacetilación $>93\%$, son de bajos pesos moleculares, además, poseen una alta amorficidad, la cual fue confirmada por la técnica de difracción de RX. Estos polisacáridos mostraron diferencias significativas en la cuantificación de su poder bioadhesivo. El quitosano es el derivado desacetilado de la quitina y es una molécula compuesta por múltiples grupos hidroxilo primarios y secundarios (-OH) y grupos amino funcionales (-RNH₂). Se realizaron dos reacciones químicas para modular las fuerzas de adhesión evidenciadas en los quitosanos α y β puros. Las fuerzas de adhesión se cuantificaron mediante una máquina de tracción universal, aplicando el método de resistencia al pelado en conformación T. Además, para profundizar la comprensión molecular de este fenómeno de adhesión, se empleó la técnica de microscopía de fuerza atómica bajo modo intermitente. Se logró demostrar la existencia de una fuerza de atracción punta-muestra, así como se identificaron los patrones de topografía superficial. Los quitosanos α y β fueron irradiados bajo luz ultravioleta y sometidos a una fotoreacción tipo injerto con el polímero polivinilpirrolidona. Las muestras se expusieron a diferentes tiempos de irradiación y

luego se determinaron los cambios en las fuerzas de adhesión y la humectabilidad. Luego de 15 minutos de irradiación, se evidenciaron los valores más altos de fuerza de adhesión para ambos polisacáridos. Los cambios de humectabilidad sobre la superficie del soporte de alfa celulosa, se evidenciaron mediante mediciones del ángulo de contacto utilizando la técnica de la gota sésil. Estos resultados confirmaron las evaluaciones físico-mecánicas obtenidas con la máquina de tracción universal. La segunda reacción de funcionalización se llevó a cabo entre α - y β -quitosano con glutaraldehído como agente reticulante. La formación de enlaces covalentes relacionados con la presencia de una base de Schiff (banda imina C=N) la cual fue confirmada mediante espectros IR-TF, incrementó la fuerza adhesiva de ambos quitosanos en más de un 25%. Por otro lado, se realizó una comparación de propiedades adhesivas entre ambos quitosanos y una muestra de almidón comercial. Los resultados indicaron valores similares entre este último y el α -quitosano, mientras que el β -quitosano los duplicó. En términos de dosificación y preparación, el β -quitosano mostró un mejor desempeño. Los resultados de esta tesis doctoral profundizan en el desarrollo de nuevas formulaciones basadas en el conocimiento de la modulación de la fuerza de adhesión de estos biopolímeros, para contribuir al desarrollo tecnológico de este campo de aplicación.



Universidad de Carabobo
Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología
Dirección de Postgrado
Doctorado en Química Tecnológica



EVALUATION OF FUNCTIONAL PROPERTIES OF α AND β CHITOSAN AS A BIOADHESIVE APPLICABLE ON CELLULOSIC SUBSTRATE

Autor: Lic. Alied José Romero Serrano

Tutor: Dr. Juan Carlos Pereira Antique

February 2024

ABSTRACT

In this research, the study of adhesion forces between two types of pure and functionalized α - and β chitosan applied on an industrial-grade substrate made from alpha cellulose fibers was conducted. Chitosan is the second most abundant biopolymer in nature after cellulose, and its isomeric molecular structures are distinguished only by the anomeric carbon at position C1 of the glucose unit (D-glucopyranose). Two commercial grade chitosan molecules from two different marine sources were used. The α isomer derived from pink shrimp and the β isomer extracted from squid pens. Both polysaccharides of high purity and high degree of deacetylation (>93%) have low molecular weights and high amorphicity was confirmed by X-ray diffraction. These polysaccharides showed significant differences in the quantification of their bioadhesive power. Chitosan is the deacetylated derivative of chitin and is a molecule composed of multiple primary and secondary hydroxyl (-OH) groups and amino functional (-RNH₂) groups. Two chemical reactions were performed on them to modulate the adhesion forces evidenced in pure α and β chitosans. Adhesion forces were quantified using the universal traction machine, through the T-peel resistance method. Additionally, to deepen the molecular understanding of this phenomenon, Atomic Force Microscopy was employed on

tapping mode. This technique showed the attraction force between the silicon tip-sample as well as identified the surface topography pattern. Both chitosans were irradiated under ultraviolet light and subjected to a graft-type photoreaction with the polymer polyvinylpyrrolidone. The samples were exposed to different irradiation times, and changes in adhesion forces and wettability were then determined. After 15 minutes of irradiation, the highest adhesion force values for both polysaccharides were evidenced. Changes in the wettability on the alpha cellulose support surface were evidenced through contact angle measurements using the sessile drop technique. These results confirmed the physico-mechanical evaluations obtained with the universal traction machine. The second functionalization reaction was carried out between α - and β chitosan with glutaraldehyde as the cross-linking agent. The formation of covalent bonds related to the presence of a Schiff base (imine C=N band) confirmed through IR-TF spectra, increased the adhesive force of both chitosan by more than 25%. On the other hand, a comparison of adhesive properties was made between both chitosan and a commercial starch sample. The results indicated similar values between the latter and α -chitosan, while β -chitosan doubled them. In terms of dosage and preparation, β -chitosan showed better performance. The results of this doctoral thesis deepen the development of new formulations based on the understanding of the modulation of the adhesion force of these biopolymers, to contribute to the technological development of this field of application.

INDICE GENERAL

PROPÓSITO DE LA INVESTIGACIÓN	1
JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	2
OBJETIVO GENERAL.....	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
CAPÍTULO I.....	5
ANTECEDENTES.....	5
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO	9
II.1 Origen de la quitina.....	9
II.2 Tipos de quitina: α , β , γ	10
II.3 Derivatización de la quitina a quitosano.....	10
II.4 Diferencias estructurales y cristalinidad de los quitosanos α y β :.....	14
II.5 Reacciones de derivatización sobre el quitosano.....	16
II.6 Celulosa: Origen y estructura molecular.....	17
II.7 Aplicación de técnicas instrumentales, mecánicas y ópticas, para caracterizar las moléculas de quitosanos α , β y sus derivados.....	21
II.8 Microscopía de Fuerza Atómica: Descripción general.....	25
II.9 Difracción de RX: descripción general.....	26
II.10 Funcionalización de la molécula de quitosano vía fotorreacción UV tipo injerto.	28
II.11 Funcionalización de la molécula de quitosano a través de la reacción de reticulación tipo base de Schiff.	29
II.12 Fuerzas adhesivas – Contacto líquido-sólido.....	30
II.13 Teorías que rigen la adhesión en la interfase adhesivo-soporte:	33
II.14 Fuerzas de adhesión bajo estudios fisicomecánicos de tracción.	36
II. 15 Ruptura de una unión adhesiva	41
II. 16 Otros bioadhesivos naturales de uso comercial.	41
CAPÍTULO III. Reactivos, Equipos y Métodos Experimentales.....	44
III. 1 Reactivos.....	44
Descripción de muestras de quitosanos.....	44
Descripción del soporte de celulosa.....	45

Descripción de reactivos químicos: puros o en soluciones concentradas	45
III. 2 Equipos de laboratorio.....	46
16.- Equipo de difracción de rayos X (DRX), marca Malvern PANalytical – Modelo Empryrean Alpha 1. Dotado de una fuente ánodo de cobre como tubo emisor de RX.....	47
III. 3 Métodos experimentales	47
Determinación del grado de desacetilación de los quitosanos α y β bajo la técnica IR-TF:.....	59
CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	67
Caracterización fisicoquímica y determinación del grado de desacetilación de los quitosanos α y β	67
Resultados de la determinación del grado de desacetilación de los quitosanos α y β bajo la técnica IR-TF.....	71
Resultados de la evaluación de las propiedades adhesivas de los quitosanos α y β puros.....	88
Resultados de la evaluación de la fuerza de adhesión de los quitosanos α y β funcionalizados con polivinilpirrolidona, a través de la fotorreacción UV tipo injerto.	90
Resultados de la medición de la fuerza de adhesión de los quitosanos α y β funcionalizados con glutaraldehído bajo reacción de base de Schiff.	101
Medición de la fuerza de adhesión: Aplicación del método de pelado en T.....	106
Comparación del comportamiento bioadhesivo entre los quitosanos α , β y el almidón:.....	107
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES	111
CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	112
CAPÍTULO VII. APÉNDICE.....	124

INDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Algunas de las aplicaciones del quitosano publicadas en la literatura científica ^{3,5,7-12}	3
Figura 2. Estructuras químicas: a) celulosa: polímero de β -(1 \rightarrow 4) D-glucopiranososa y b) quitina: polímero de β -(1 \rightarrow 4) 2 acetamido – 2 deoxi– D glucopiranososa ²⁸	9
Figura 3. Tipos de ordenamiento en las estructuras de los diferentes polimorfos de la quitina ²⁷	10
Figura 4. Proceso de transformación de la quitina a quitosano.	11
Figura 5. Proceso químico de N-desacetilación: hidrólisis básica.....	12
Figura 6. Proceso biológico de N-desacetilación: hidrólisis enzimática.....	13
Figura 7. Proceso de solubilización del quitosano en medio ácido.....	14
Figura 8. Estructura molecular representando los enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares presentes en la molécula de quitina α ⁴⁸	15
Figura 9. Estructura molecular representando los enlaces de hidrógeno intramoleculares presentes en la molécula de quitina β ⁴⁸	16
Figura 10. Reacciones de derivatización típicas sobre la molécula de quitosano ²⁹	17
Figura 11. Unidad monomérica β -D-glucopiranososa presente en la celulosa ⁵⁸	19
Figura 12. Enlaces intramoleculares presentes en la estructura de la celulosa ⁵⁹	20
Figura 13. Técnica de titulación conductimétrica. Línea verde corresponde al exceso de H ⁺ . Línea roja representa la titulación de los grupos -RNH ₂ del quitosano. Línea azul, exceso de NaOH ⁷²	22
Figura 14. Técnica de titulación potenciométrica para el quitosano evidenciando dos puntos de equivalencia ⁷²	23
Figura 15. Técnica de integración de señales del espectro IR-TF del quitosano. a) Curva de calibración para la relación de áreas A1320/A1420 ⁷⁰ . b) Integración de señales para el quitosano ⁷¹	24
Figura 16. Espectro de protones por resonancia magnética nuclear (¹ HRMN) del quitosano ⁷²	24
Figura 17. MFA (Microscopía de fuerza atómica) – Determinación de la fuerza de adhesión bajo 03 posibles modos de contacto, punta-muestra.....	25
Figura 18. MFA (Microscopía de fuerza atómica) – Interacción atómica.....	26
Figura 19. Patrones de difracción típicos: a) Comparación quitina y quitosano ⁶⁹ ,.....	27
b) alfa celulosa con alta (1), media (2) y baja (3) cristalinidad ²⁵	27
Figura 20. Obtención de polivinilpirrolidona vía radicales libres ⁷⁶	29

Figura 21. Reacción de reticulación entre el quitosano y glutaraldehído a través de la formación de una base de Schiff.....	30
Figura 22. Unión de soportes por un adhesivo.	31
Figura 23. Formación de la unión adhesiva.	32
Figura 24. Diagrama esquemático de las teorías de adhesión: a) mecánica, b) difusión, c) electrostática, d) humectabilidad.....	33
Figura 25. Diagrama de interpretación del ángulo de contacto.....	36
Figura 26. Descripción del sentido de la fuerza y desplazamiento en un ensayo de tracción ⁷⁹	37
Figura 27. Descripción de las energías disipadas durante un ensayo de corte o tracción.....	38
Figura 28. Tipos de ensayos de resistencia al pelado para medir fuerza de adhesión ⁸¹ : ángulo de 90°, b) ángulo de 180° y c) pelado en conformación T.	38
Figura 29. Tipos de fallas en la unión adhesivo-soporte: a) cohesiva, b) adhesiva, .. c) falla de soporte (delaminación).	39
Figura 30. Representación característica del ensayo de resistencia al pelado en conformación T ⁸⁰	40
Figura 31. Composición de la molécula de almidón: a) Amilopectina y b) Amilosa ¹⁰³	43
Figura 32. Aspecto físico (color y fluidez) de las soluciones al 2% p/v: a) Quitosano α , b) Quitosano β	49
Figura 33. Fotografía referencial del analizador termogravimétrico.....	50
Figura 34. Determinación del valor de pH de las soluciones preparadas.	51
Figura 35. Determinación de la viscosidad de las soluciones preparadas.....	51
Figura 36. Barras Mayer: a) Detalle de su forma y bobinado de alambre, b) conjunto de barras con alambres de diferentes calibres.	52
Figura 37. Descripción de las dimensiones del soporte de celulosa recubierto con bioadhesivo.....	53
Figura 38. Técnica de recubrimiento sobre el soporte de celulosa, empleando la barra Mayer 10.....	54
Figura 39. Película de bioadhesivo recubierta sobre el soporte de celulosa. a) Aspecto de la película húmeda, b) aspecto de la película seca	54
Figura 40. Micrómetro electrónico empleado en la determinación del espesor total del cuerpo de prueba tipo sándwich.....	55
Figura 41. Preparación de los cuerpos de prueba:.....	56

Figura 42. Desarrollo del método de resistencia al pelado en conformación T en equipo de tracción. a) Ajuste del cuerpo de prueba en las pinzas sujetadoras, b) montaje final en conformación T, c) proceso de pelado ascendente con ruptura de la unión adhesiva y medición de la fuerza de adhesión.....	57
Figura 43. a) Montaje experimental, b) medición del ángulo de contacto a través del software del microscopio HiView.....	59
Figura 44. Microscopio de fuerza atómica Brucker– MFA / UCV: a) Imagen del equipo MFA, b) zoom del enfoque sobre la muestra.	61
Figura 45. Difractómetro de rayos X Malvern Panalytical con fuente de cobre. a) Imagen del equipo DRX, b) detalle del portamuestras.....	62
Figura 46. Disociación del ácido acético en medio acuoso.....	67
Figura 47. Representación gráfica de la estabilidad del pH de las soluciones de quitosanos al 1% p/v evaluada en un período 7 semanas.....	69
Figura 48. Representación gráfica de la estabilidad de la viscosidad de las soluciones de quitosanos al 1% p/v en un período 7 semanas.....	71
Figura 49. Espectro IR-TF del quitosano α – Lote 070PMP – Modo transmitancia	72
Figura 50. Espectro IR-TF del quitosano β –Lote 727QLB – Modo transmitancia	73
Figura 51. Comparación de espectros IR-TF para los quitosanos α y β , identificando los grupos funcionales principales. La estructura molecular muestra los sitios en los cuales se pueden formar los puentes de hidrógeno.....	73
Figura 52. Descripción de los enlaces de hidrógeno intramoleculares que puede formar la molécula del quitosano.....	74
Figura 53. Integración de señales IR para quitosano α (1420.91 cm^{-1} y 1321.02 cm^{-1}).	75
Figura 54. Integración de señales IR para quitosano β (1424.40 cm^{-1} y 1320.38 cm^{-1}).	76
Figura 55. Difractograma de rayos X para la muestra de quitosano α puro.....	80
Figura 56. Difractograma de rayos X para la muestra de quitosanos β puro.	80
Figura 57. Difractograma de rayos X para el soporte de alfa celulosa.	81
Figura 58. Representación gráfica de la medición de fuerza de adhesión (atractiva) y la fuerza de repulsión para el quitosano α	84
Figura 59. Representación gráfica de la medición fuerza de adhesión (atractiva y la fuerza de repulsión para el quitosano β	85
Figura 60. Representación gráfica de la medición de la fuerza de adhesión (atractiva) y la fuerza de repulsión para alfa celulosa.	86

Figura 61. Comparación de la fuerza de adhesión promedio detectada para cada polisacárido.....	86
Figura 62. Microfotografía 3D de la película de quitosano α bajo microscopio MFA. Evaluación topográfica de la rugosidad.	87
Figura 63. Microfotografía 3D de la película de quitosano β bajo microscopio MFA. Evaluación topográfica de la rugosidad.	87
Figura 64. Microfotografía 3D del soporte de celulosa bajo microscopio MFA. Evaluación topográfica de la rugosidad.	88
Figura 65. Soporte de alfa celulosa delaminado. Evaluación de ensayo de resistencia al pelado empleando solución de quitosano al 2.5% p/v.	89
Figura 66. Muestras tipo sándwich dentro de la cámara de irradiación UVC.	92
Figura 67. Fotoreacción tipo injerto bajo luz UV entre los polímeros de quitosano y polivinilpirrolidona.	92
Figura 68. Representación gráfica del comportamiento de la fuerza de adhesión con el tiempo de irradiación UV para las mezclas Qtα-PVP-1 y Qtβ-PVP-1	95
Figura 69. Posible ruptura del enlace glicosídico de la molécula de quitosano a partir de 20 min de irradiación UV.	95
Figura 70. Representación gráfica del comportamiento de la fuerza de adhesión con el tiempo de irradiación UV para las mezclas Qtα-PVP-2 y Qtβ-PVP-2	97
Figura 71. Representación gráfica comparativa del comportamiento de la fuerza de adhesión cuantificada para las mezclas Qtα-PVP-1 y Qtα-PVP-2	98
Figura 72. Representación gráfica comparativa del comportamiento de la fuerza de adhesión cuantificada para las mezclas Qtβ-PVP-1 y Qtβ-PVP-2	98
Figura 73. Comparación de espectros IR-TF de las mezclas Qt α -PVP2 y Qt β -PVP2 después de la irradiación UV durante 20 min.	99
Figura 74. Variación del ángulo de contacto con el tiempo de irradiación UV.	100
Figura 75. Aspecto de las películas de quitosano revestidas sobre el soporte de alfa celulosa. Películas secas, fotografiadas en microscopio óptico a 10X: a) quitosano α puro, b) quitosano β puro, c) película reticulada: Qt β -Gt-1.....	103
Figura 76. a) Reacción de formación de la base de Schiff, b) Reacción de autocondensación aldólica del glutaraldehído, c) Mecanismo de formación del polímero de glutaraldehído bajo autocondensación.....	104.
Figura 77. Espectros IR-TF del quitosano α puro (rojo) y reticulado Qt α -Gt-1 (azul). Ampliación entre 1200 -2500 cm^{-1}	105
Figura 78. Espectros IR-TF del quitosano β puro (rojo) y reticulado Qt β -Gt-1 (azul). Ampliación entre 1200 -2500 cm^{-1}	106

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Preparación de las mezclas de quitosanos α , β con PVP.....	63
Tabla 2. Relación de mezclas de quitosanos α y β con glutaraldehído al 1% v/v.....	65
Tabla 3. Caracterización de las soluciones acuosas de quitosano α y β al 1% p/v, antes del almacenamiento a 25°C por 7 semanas.	68
Tabla 4. Evaluación de la estabilidad del pH de las soluciones de quitosano al 1% p/v durante 7 semanas a 25°C.....	69
Tabla 5. Evaluación de la estabilidad de la viscosidad de las soluciones de quitosanos al 1% p/v durante 7 semanas a 25°C:	70
Tabla 6. Comparación de las señales en los espectros IR-TF de quitosanos puros α y β	72
Tabla 7. Coordenadas de integración de las señales para quitosano α - software OPUS Spectroscopy.....	75
Tabla 8. Coordenadas de integración de las señales para quitosano β - software OPUS Spectroscopy.....	76
Tabla 9. Comparación de resultados GDA y GA entre técnicas IR-TF y ¹ HRMN.	78
Tabla 10. Comparación de las señales observadas en los difractogramas RX. Medición de la intensidad con respecto al ángulo 2θ	79
Tabla 11. Determinación de la fuerza de adhesión (nN) vía MFA – Modo de contacto intermitente. Resultados para quitosano α	83
Tabla 12. Determinación de la fuerza de adhesión (nN) vía MFA- Modo de contacto intermitente. Resultados para quitosano β	84
Tabla 13. Determinación de la fuerza de adhesión (nN) vía MFA – Modo de contacto intermitente. Resultados para soporte de alfa celulosa.....	85
Tabla 14. Resultados de la medición de la fuerza de adhesión promedio de los quitosanos puros a una concentración del 2% p/v en los cuerpos de prueba tipo sándwich.....	90
Tabla 15. Caracterización de las soluciones acuosas de PVP y quitosanos α y β	91
Tabla 16. Caracterización de las mezclas de quitosanos α , β con solución de PVP..	91
Tabla 17. Resultados de la fuerza de adhesión de los quitosanos α y β funcionalizados con PVP bajo fotoreacción UV, mezcla 1. Evaluación a diferentes tiempos de irradiación.	94
Tabla 18. Resultados de la fuerza de adhesión de los quitosanos α y β funcionalizados con PVP bajo fotoreacción UV, mezcla 2. Evaluación a diferentes tiempos de irradiación.	96

Tabla 19. Resultados de la medición del ángulo de contacto a las mezclas recubiertas sobre el soporte de alfa celulosa (sin laminación). Secado a los diferentes tiempos de irradiación al UV.....	101
Tabla 20. Caracterización de las soluciones quitosanos – Gt.....	102
Tabla 21. Comparación de las señales en los espectros IR-TF de quitosanos reticulados con Gt: Muestras: Q α -Gt-1 y Q β -Gt-1.....	105
Tabla 22. Determinación de la fuerza bioadhesiva (gf/cm) de los adhesivos reticulados quitosano-glutaraldehído, revestido sobre soporte de alfa celulosa.	107
Tabla 23. Caracterización del adhesivo a base de almidón de maíz:.....	108
Tabla 24. Determinación de la fuerza bioadhesiva (gf/cm) del adhesivo de almidón, revestido sobre soporte de alfa celulosa.....	108
Tabla 25. Comparación de la fuerza bioadhesiva (gf/cm) del adhesivo de almidón, con los bioadhesivos de quitosanos puros y funcionalizados.....	110

PROPÓSITO DE LA INVESTIGACIÓN

En la actualidad, se conoce de la existencia de la quitina como un biopolímero extraído principalmente del exoesqueleto de los crustáceos, lo cual es considerado como un desecho de gran volumen para muchos países. Debido a que la quitina es insoluble en agua, hoy en día se encuentra limitado su uso, por lo cual, es transformado químicamente a quitosano, a través de un proceso de hidrólisis alcalina o enzimática²⁻⁴. Este polisacárido, se perfila como un biopolímero prometedor para reemplazar adhesivos sintéticos derivados de hidrocarburos, los cuales se han comercializado a nivel industrial durante los últimos 30 años. Se ha estimado que estos adhesivos base solvente, presenten una tasa de crecimiento anual del 1.3%, considerando un volumen de 2506 kilotoneladas registrado en el año 2021 hasta alcanzar 2670 kilotoneladas para el año 2026. Por su parte, el mercado cerró en 7.6 billones de dólares USD para el 2021 y se proyecta en 8.5 billones de dólares USD para el 2026, con una tasa anual del 2.3%¹⁰⁹.

Los mercados que más exigen el uso de estos compuestos, son principalmente la industria del papel, embalaje, carpintería, calzado, construcción y la industria automotriz. Algunos ejemplos de estos adhesivos, lo constituyen los derivados del polivinilacetato, resinas epóxicas, acrilatos, cauchos sintéticos, resinas fenol-formaldehído y poliuretano. Todos derivados de fuentes no renovables y de origen petroquímico, por lo que pueden contener compuestos orgánicos volátiles y tóxicos (VOC's)⁵. Las aplicaciones industriales se realizan principalmente empleando soportes derivados de celulosa, plásticos, gomas o cauchos, cuero y metales, entre otros.

En el contexto actual de crisis energética y los altos niveles de contaminación ambiental, es crucial fomentar la investigación aplicada y el desarrollo de tecnologías innovadoras. Este enfoque permitiría la creación de nuevos productos en el campo de los bioadhesivos, siendo estos una alternativa sostenible y amigable con el medioambiente, además de representar un ahorro de costos para la industria.

El propósito de esta investigación se basa en la evaluación de la propiedad bioadhesiva de la molécula del quitosano aplicado sobre un soporte de alfa celulosa. Se busca cuantificar el valor de adhesividad en sus isómeros α y β , empleando la metodología de resistencia al pelado y la técnica MFA a escala nanométrica.

Existen muchos puntos por comprender en la modulación de la adhesividad en los quitosanos α y β . Esto permitiría obtener productos con características atractivas principalmente para el mercado de los adhesivos aplicados sobre soportes de papel y cartón. Dar aportes sobre propiedades adhesivas que diferencien ambos polimorfos es una cuestión donde existen pocos trabajos reportados en la literatura.

JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Tomando como base la función del polímero de la quitina en el proceso biológico de la formación y regeneración de la cutícula de numerosos insectos, este trabajo se inspira en el hecho de que esta molécula a través de la formación de múltiples enlaces quitina-proteínas, actúa como un pegamento natural capaz de brindar rigidez y soporte a los exoesqueletos^{1,6}.

La eficacia del quitosano como un bioadhesivo ya ha sido probada en algunos campos de aplicación como la biomedicina y farmacia⁷⁻⁹. Su reactividad y versatilidad, se relaciona con la presencia de numerosos grupos aminos e hidroxilos, los cuales facilitarían su funcionalización y a su vez permitirían la modulación de las propiedades bioadhesivas. La Figura 1 resume otras aplicaciones en las que también ha sido demostrada la efectividad de la molécula del quitosano en procesos industrializados¹⁰⁻¹².

Recientes estudios publicados por Markets & Markets¹³ incluyen una estimación hasta el año 2025 del mercado de los bioadhesivos, los cuales tienen como objetivo principal proyectar la demanda de consumo para los próximos 5 años. Esto debido a que se ha experimentado un crecimiento relevante en mayor número de industrias. Se ha estimado un crecimiento a nivel mundial desde los 6 billones de dólares USD en el 2020 a 9.7 billones de dólares USD para el año 2025, con una tasa de crecimiento anual del 10%.

Específicamente, el mercado global del quitosano presentó resultados de 10.88 billones de dólares USD y 63.7 kilotoneladas para el cierre del año 2022¹⁴, y se estima una tasa de crecimiento de 20.1% en el período 2023-2030, para alcanzar cifras de hasta 47.06 billones de dólares al final del año 2030¹⁵.

Con este trabajo se pretende hacer una contribución a la investigación científica sobre el estudio de los polimorfos α y β del quitosano, destacando su desempeño como materiales bioadhesivos. Adicionalmente, incorporar este tipo de polisacáridos naturales, hidrofílicos y reactivos como alternativas a formulaciones adhesivas ya comercializadas, podría mejorar las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de otros materiales como la celulosa.

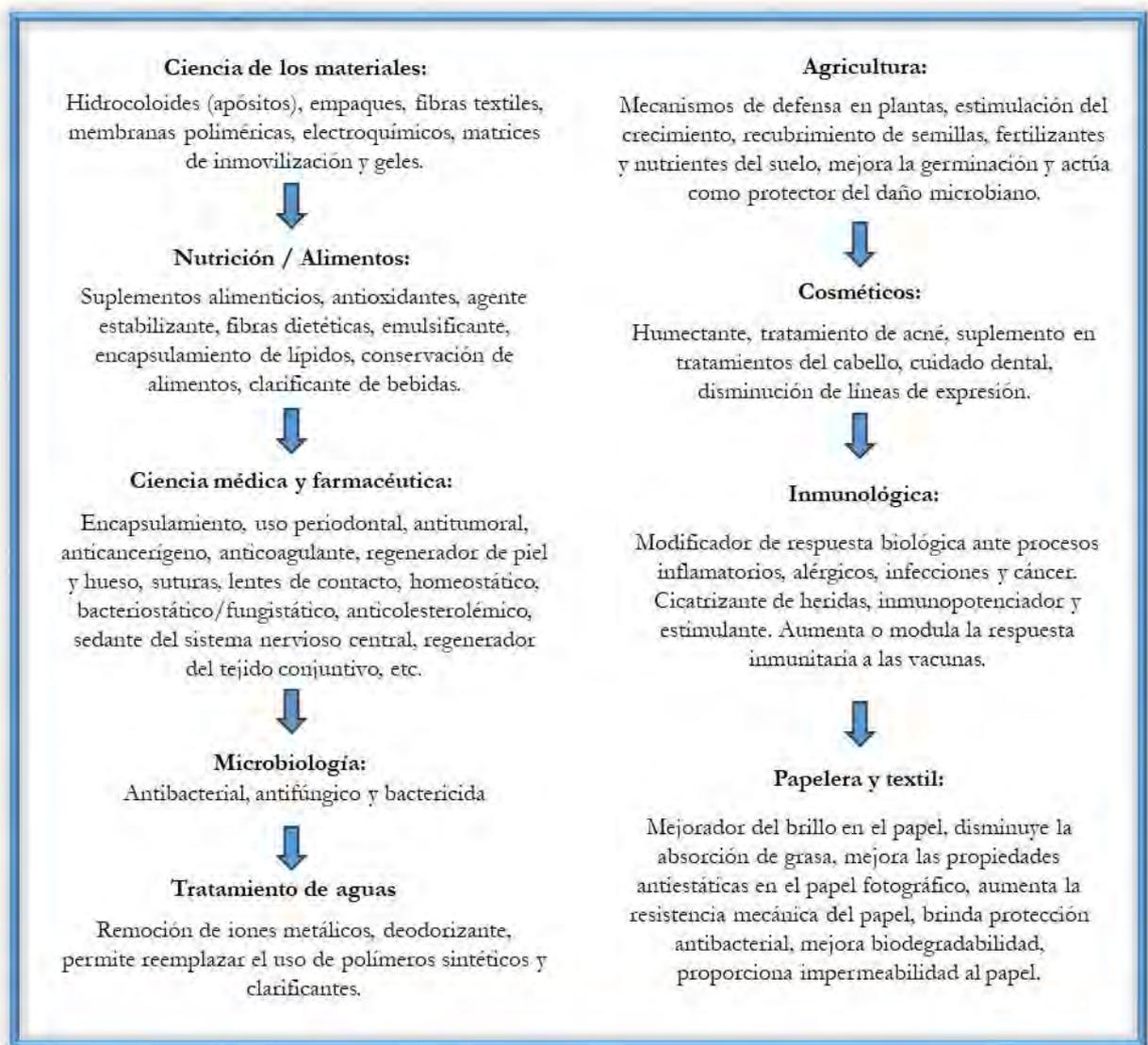


Figura 1. Algunas de las aplicaciones del quitosano publicadas en la literatura científica^{3,5,7-12}.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la funcionalidad de las moléculas α y β quitosano, así como sus derivados, como bioadhesivos aplicables sobre un soporte orgánico celulósico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Evaluar las propiedades adhesivas y mecánicas de las moléculas puras α , β quitosano en solución acuosa, sobre un soporte de origen celulósico.
- 2.- Funcionalizar las moléculas α y β quitosano mediante reacciones químicas para comparar sus propiedades como bioadhesivo natural.
- 3.- Estudiar el efecto en las propiedades bioadhesivas, al incorporar moléculas reticulantes sobre soluciones acuosas de α , β quitosano y sus derivados.
- 4.- Comparar el comportamiento de los bioadhesivos α y β y sus derivados, con adhesivos comerciales sobre un soporte celulósico.

CAPÍTULO I.

ANTECEDENTES

Una gran cantidad de estudios continúan siendo publicados en numerosas revistas y libros científicos sobre la quitina, el quitosano y sus aplicaciones. Hoy en día existen asociaciones iberoamericanas, laboratorios de investigación especializados en su extracción, evaluación de propiedades y aplicaciones. Adicionalmente, se ha incrementado la cantidad de empresas productoras de quitina, quitosano y sus derivados, inclusive en Latinoamérica, estando presentes en Venezuela, Ecuador, Chile y Argentina.

A continuación, se describe una recopilación de trabajos científicos publicados en la literatura en los cuales se ha empleado el quitosano como un material bioadhesivo funcionalizado, cuya caracterización se ha basado en la aplicación de metodologías químicas, fisicomecánicas, espectroscópicas y microscópicas.

Bae y colaboradores (2002)¹⁶, formularon un adhesivo biológico a base de gelatina, proteínas térmicas sintéticas y glutaraldehído como reticulante. Lograron inducir la formación de una base de Schiff en la cual los grupos aminos y carboxílicos presentes en las cadenas péptidas, reaccionaron para formar enlaces iminos que incrementaron la fuerza mecánica de la gelatina. La fuerza de adhesión fue medida aplicando el método de resistencia al pelado en T colocando el adhesivo formulado entre dos capas de tejido de piel de ratas. Empleando una velocidad de pelado de 10 mm/min, consideraron el valor de máximo de fuerza como el más representativo de cada formulación, concluyendo que la incorporación de las proteínas térmicas sintéticas permite superar el desempeño de las muestras comerciales.

Umemura y colaboradores (2003)¹⁷, investigaron las propiedades adhesivas de mezclas de polisacáridos y sus derivados, con la finalidad de desarrollar un nuevo bioadhesivo para la industria de la madera. Para ello, emplearon quitosano grado comercial con $PM=35000$ g/mol y $GDA=80-90\%$, disuelto en una solución al 1% de ácido acético. Seguidamente, combinaron con el polisacárido Konjac glucomanan, extraído del tubérculo *Amorphoballus Konjac*. Los ensayos propuestos fueron comparados con tres productos comerciales: resina urea-formaldehído, polvo de caseína y pegamento a base de soya. Se prepararon contraenchapados de tres capas de madera para realizar los ensayos, midiendo las propiedades adhesivas en condiciones secas y húmedas. Los resultados mostraron que al combinar el Konjac glucomanan con el quitosano, se incrementó la adhesividad en ambas condiciones, por lo cual recomendaron su uso industrial. Esta combinación, logró superar el comportamiento de los adhesivos a base de caseína y soya, además se recomendó como un material alternativo al adhesivo a

base de resina urea formaldehído, el cual aunque presentó resultados más destacados en todos los experimentos, representa la opción menos ecológica.

Sionkowska y colaboradores (2005)¹⁸, estudiaron las propiedades mecánicas y superficiales de las mezclas de quitosano con polivinilpirrolidona (PVP) antes y después de exponerlas a irradiación ultravioleta o UV (λ 254nm) durante diferentes intervalos de tiempo. Evaluaron los cambios en la resistencia a la rotura, el porcentaje de elongación y el módulo de Young de las películas formadas. Los resultados demostraron que las propiedades mecánicas de las mezclas se vieron muy afectadas por la radiación UV. El nivel de cambio de estas propiedades fue menor en las mezclas que en el quitosano puro y fuertemente dependiente del tiempo de irradiación y la composición de las muestras. Demostraron que el ángulo de contacto y la energía libre de la superficie fueron alterados por la radiación UV, lo que indicó la presencia de fotooxidación y un aumento de la polaridad. El rango de estos cambios apuntó a una mayor sensibilidad del quitosano a la fotooxidación en comparación con PVP y las mezclas preparadas.

Fernandes y colaboradores (2010)¹⁹, recubrieron láminas de papel *Eucalyptus globus* con quitosano y un derivado de quitosano soluble en agua, empleando una máquina piloto presurizada. Aplicaron de 1 a 5 capas de recubrimiento y estudiaron las propiedades generales como gramaje, peso de recubrimiento y densidad aparente. Además, sus fuerzas mecánicas de tensión, superficie y resistencia a la rotura, empleando un equipo de tracción. Finalmente caracterizaron su morfología, óptica (brillo y opacidad) y calidad de impresión. Los resultados evidenciaron que el papel recubierto con quitosano y su derivado, tuvieron un impacto positivo en las propiedades finales del soporte impregnado, relacionándose con el número de capas de polímero depositado. Los papeles recubiertos con el derivado de quitosano, presentaron propiedades ópticas y de impresión que superaron al papel con quitosano puro. Los resultados demostraron que estos recubrimientos a base de quitosano, podrían considerarse como una alternativa sustentable para mejorar las propiedades de los productos papeleros.

Ji y colaboradores (2017)²⁰ desarrollaron una metodología para preparar adhesivos a base de quitosano reticulados con glutaraldehído, con muy alto desempeño en la fabricación de aglomerados de madera de mediana densidad. Investigaron los efectos del contenido de glutaraldehído sobre la fuerza del enlace adhesivo y la resistencia al agua del tablero fabricado. Los mejores resultados indicaron valores de fuerza adhesiva de 1.22 MPa, con un alto módulo de elasticidad, para el aglomerado preparado con una relación de 0.25g glutaraldehído y 1 g de quitosano. El adhesivo fue caracterizado por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier IRTF, análisis termogravimétrico (ATG) y difracción de rayos X. Sus excelentes propiedades

adhesivas se asociaron con la reacción tipo base de Schiff con la molécula del quitosano.

Ponguzhali y colaboradores (2017)²¹ fabricaron membranas a partir de mezclas de quitosano con polivinilpirrolidona ó PVP en diferentes proporciones de peso, midiendo el espesor, las propiedades mecánicas y su solubilidad en agua. La morfología de las membranas se analizó mediante microscopía electrónica, difracción de rayos X (DRX), y técnicas espectroscópicas. Comprobaron que la cristalinidad disminuyó con el aumento del contenido de PVP. Las membranas con una proporción de mezcla 1:1 quitosano: PVP, mostraron los resultados mas satisfactorios. Adicionalmente investigaron la actividad antibacteriana de las membranas contra *Pseudomonas aeruginosa* Gram-negativa y *Staphylococcus aureus* Gram-positiva. Demostraron que la concentración de PVP contribuyó al efecto antibacteriano de las membranas. Finalmente, demostraron la compatibilidad sanguínea de las membranas a través de una prueba de hemólisis *in vitro*. Estos hallazgos sugirieron que las mezclas de quitosano con PVP resultan en materiales prometedores para aplicaciones biomédicas.

Awalekar y colaboradores (2018)²², investigaron la efectividad de la técnica de resistencia al pelado en diferentes ángulos 90°, 135°, 180° y conformación en T, para demostrar su uso como una herramienta que contribuye en la selección del adhesivo adecuado para unir dos materiales diferentes. La investigación contempló la medición de la energía total de resistencia al pelado, como una combinación de la fuerza que representa la deformación de la junta adhesiva y la pérdida por fricción durante el ensayo de tracción. El efecto del ángulo de medición, la temperatura, humedad y el espesor de la capa de adhesivo han sido claves en la interpretación y validación del método.

Martínez-Mejía (2019)²³, estudiaron la síntesis de hidrogeles preparados a partir de quitosano y glutaraldehído como agente reticulante, aplicables al área de ingeniería de tejidos. La concentración del glutaraldehído fue variada en un rango desde 2% al 10% con respecto al polisacárido. La reacción de formación de base de Schiff fue monitoreada considerando el grado de hinchamiento y propiedades reológicas de los hidrogeles. Los ensayos de citotoxicidad realizados, demostraron que los hidrogeles con concentraciones de 2, 4 y 6% de glutaraldehído, resultaron citocompatibles. Por su parte, las concentraciones más altas de glutaraldehído, 8% y 10% resultaron citotóxicas ante los fibroblastos humanos evaluados *in vitro*.

Brussiere y colaboradores (2021)²⁴ reportaron nuevos hallazgos en el mecanismo de fotodegradación del quitosano, a través de películas expuestas a un envejecimiento acelerado bajo UV a una $\lambda > 300$ nm y 60°C en presencia de oxígeno. Empleando espectroscopía IR-TF y UV-visible, identificaron la formación de derivados tipo

gluconolactonas, así como rupturas de cadenas que generaron nuevas moléculas de bajos pesos moleculares. Las variaciones en las propiedades superficiales y mecánicas, fueron caracterizadas vía MFA y se analizaron de acuerdo a los cambios estructurales encontrados a escala molecular.

González y colaboradores (2022)²⁵, realizaron experimentos de extracción de alfa celulosa a partir de un tratamiento de deslignificación alcalina y blanqueamiento de las fibras extraídas de la hierba *Meghatyrsus maximus*. La caracterización inicial de la biomasa consistió en 45% de celulosa, 35% de hemicelulosa y 20% de lignina. La celulosa obtenida se caracterizó por IR-TF, difracción de RX, análisis termogravimétrico y microscopía electrónica de barrido. El contenido de alfa celulosa resultó en 98.5% con una cristalinidad del 61%, demostrando que fue posible obtener un producto final de alta calidad, comparable con las fibras de alfa celulosa comercial.

Joshi y colaboradores (2022)²⁶, reportaron una revisión bibliográfica para describir el uso de la técnica de microscopía de fuerza atómica (MFA) en la investigación de biopolímeros e hidrogeles basados principalmente en los polisacáridos de quitosano, alginato, carragenina. Su aplicación resulta mayoritariamente relevante para el estudio de la ciencia de ingeniería de tejidos y otras aplicaciones biotecnológicas, donde se requieren evaluar propiedades mecánicas, elásticas, cargas superficiales, adhesión y topografía de las superficies, entre otros. Es una de las técnicas microscópicas de mayor resolución, y por lo general, se puede aplicar en el aire o incluso en líquidos, lo que permite la investigación de una gama más amplia de muestras que la microscopía electrónica de barrido (MEB), que se realiza principalmente en vacío. Su funcionamiento se basa en el escaneo de la superficie en estudio, en función a la fuerza detectada entre la punta y la muestra.

CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

II.1 Origen de la quitina

La quitina, es el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza y su aparición inició con el químico francés Henri Braconott en 1811²⁷ quien extrajo una sustancia del hongo *Agaricus volvaceus*, insoluble en medio alcalino, a la que llamó *Fungina*.

En 1823, se descubrió una sustancia similar en la cutícula del escarabajo a la cual se nombró por primera vez como quitina del griego “*χιτών*” que significa chiton o envoltura. Años posteriores se describió esta molécula como un carbohidrato y como una glucosamina¹.

Siendo la celulosa el polímero más abundante en la naturaleza, resulta químicamente interesante la similitud estructural con la quitina. La diferencia radica básicamente en los grupos acetamidos presentes en el carbono C2 y que reemplazan grupos -OH en la molécula de celulosa^{28,29}, como puede observarse en la Figura 2.

La quitina es una molécula insoluble en agua y en la mayoría de los solventes orgánicos comunes²⁸. Se encuentra como el principal componente de los caparazones de crustáceos, como cangrejos, camarones y langostas, además en moluscos e insectos, y adicionalmente se extrae de las paredes celulares de los hongos y levaduras.

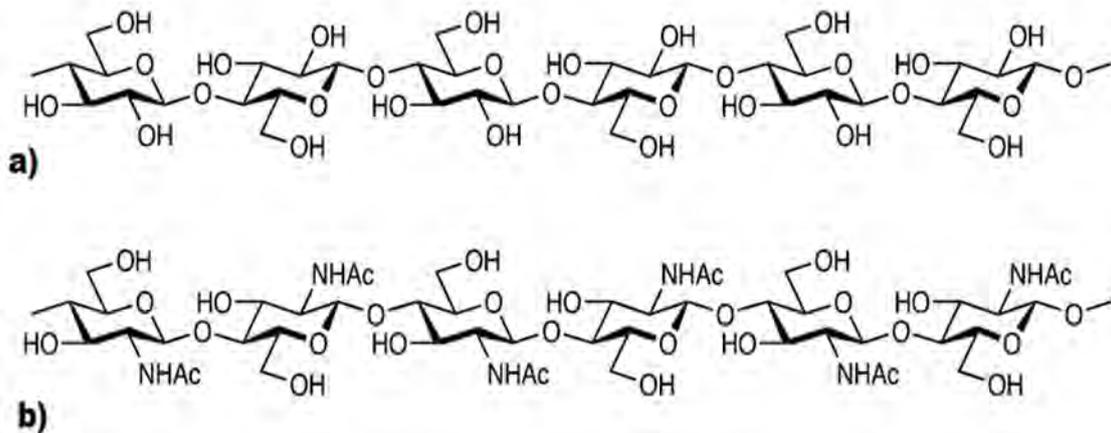


Figura 2. Estructuras químicas: a) celulosa: polímero de β -(1 \rightarrow 4) D-glucopiranososa y b) quitina: polímero de β -(1 \rightarrow 4) 2 acetamido – 2 deoxi– D glucopiranososa²⁸.

II.2 Tipos de quitina: α , β , γ

Dado que las fibras de la quitina se asocian unas a otras, la molécula adopta tres posibles organizaciones cristalinas que se muestran en la Figura 3.

- Ordenamiento antiparalelo* (α): presente en la mayor cantidad de artrópodos, siendo la más abundante, estable, altamente cristalina (80%) y presenta los más fuertes enlaces intermoleculares. Se encuentra en superficies duras o rígidas^{28,30,31}.
- Ordenamiento paralelo* (β): encontrado mayoritariamente en calamares, gusanos gigantes e insectos. Resulta más reactiva, semicristalina, más soluble y con débiles fuerzas intermoleculares^{27,28}.
- Ordenamiento asimétrico* (γ): es el menos común, y además se ha asociado como una distorsión de las organizaciones α y β ³², aunque también se ha reportado su presencia en capullos de escarabajos y en paredes celulares de hongos^{27,28,32}.

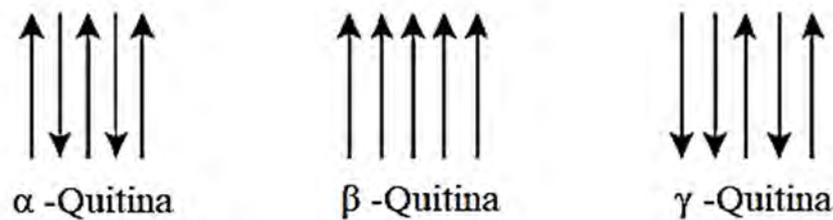


Figura 3. Tipos de ordenamiento en las estructuras de los diferentes polimorfos de la quitina²⁷.

II.3 Derivatización de la quitina a quitosano.

De acuerdo a la nomenclatura de la Sociedad Europea de la Quitina (European Chitin Society -EUCHIS), estas moléculas deben ser clasificadas en base a su solubilidad en una solución acuosa de ácido acético 0.1M. El material soluble es llamado quitosano, mientras que el insoluble es conocido como quitina³².

Las dos características químicas más importantes que determinan el desempeño, las propiedades fisicoquímicas y biológicas del quitosano, son el peso molecular y su grado de desacetilación. Se denomina grado de desacetilación (GDA) a la relación entre las unidades de glucosamina y N-acetil glucosamina presentes en su estructura. El quitosano se comercializa con masas moleculares de aproximadamente 10.000 a 1 millón de Dalton y grados de desacetilación GDA entre (60-95) %⁴⁸. El quitosano ha demostrado tener una alta biocompatibilidad y biodegradabilidad, así como una muy

baja toxicidad (LD50 en ratas – laboratorio: 16g/Kg), por lo cual está actualmente recomendado para consumo humano⁴⁷.

La molécula de quitosano posee habilidades de adsorción sobre diversos soportes, así como una alta reactividad química debido a los numerosos grupos hidroxilos y aminos secundarios presentes en su estructura. A un pH por debajo de 6.0, los grupos $-NH_2$ toman carácter catiónico al convertirse en grupos protonados $R-NH_3^+$ lo cual diversifica su utilización a nivel industrial por la formación de múltiples derivados. Se conoce sobre su alto desempeño en industrias agrícolas, cosméticas, tratamiento de aguas, adhesivos, biomedicina, alimentos, industria de papel, textil, entre otras^{38,45-48}.

La reacción de N-desacetilación, se puede llevar a cabo como un proceso químico o biológico. El tratamiento químico consiste en una hidrólisis básica empleando soluciones de NaOH o KOH entre (30-50) % y altas temperaturas. Por su parte, el proceso biológico se basa en una hidrólisis enzimática en la cual se emplean enzimas catalizadoras como la CDA (quitina deacetilasa) y AXE (acetilxilano esterasa).

La Figura 4 describe las condiciones específicas del proceso industrial de hidrólisis básica, el cual resulta ser el más común y con el cual se obtiene el rendimiento más alto posible del quitosano.

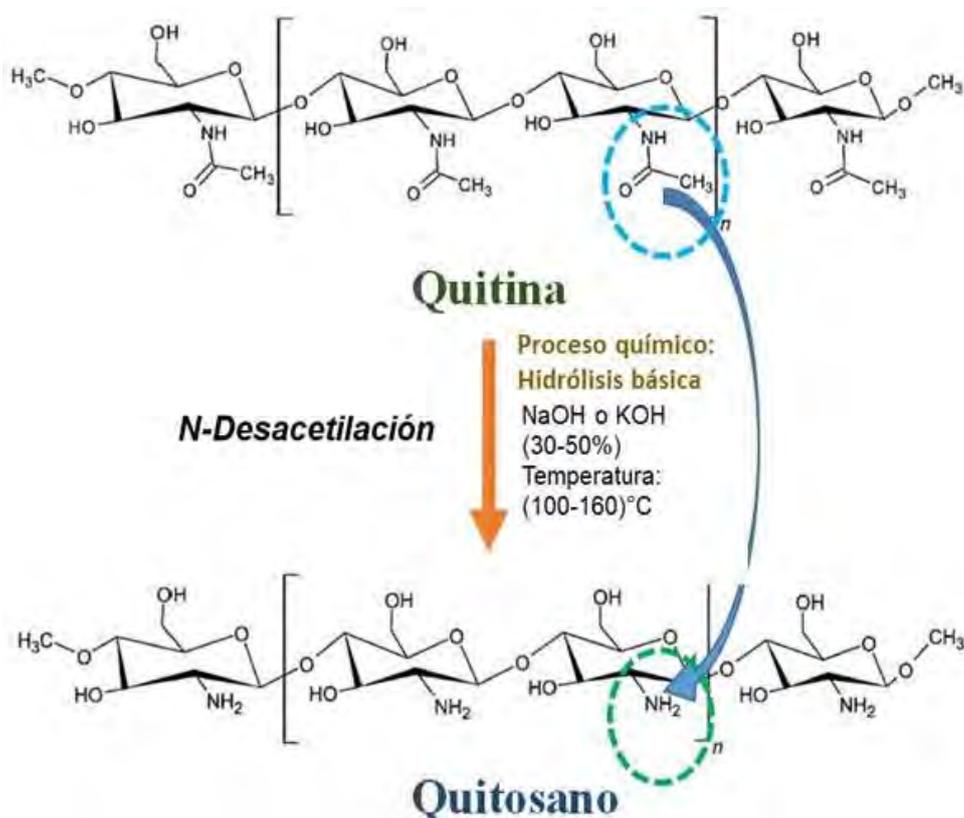


Figura 4. Proceso de transformación de la quitina a quitosano.

La reacción química de N-desacetilación bajo hidrólisis alcalina, descrita en la Figura 5, se lleva a cabo como una reacción de sustitución nucleofílica de dos pasos:

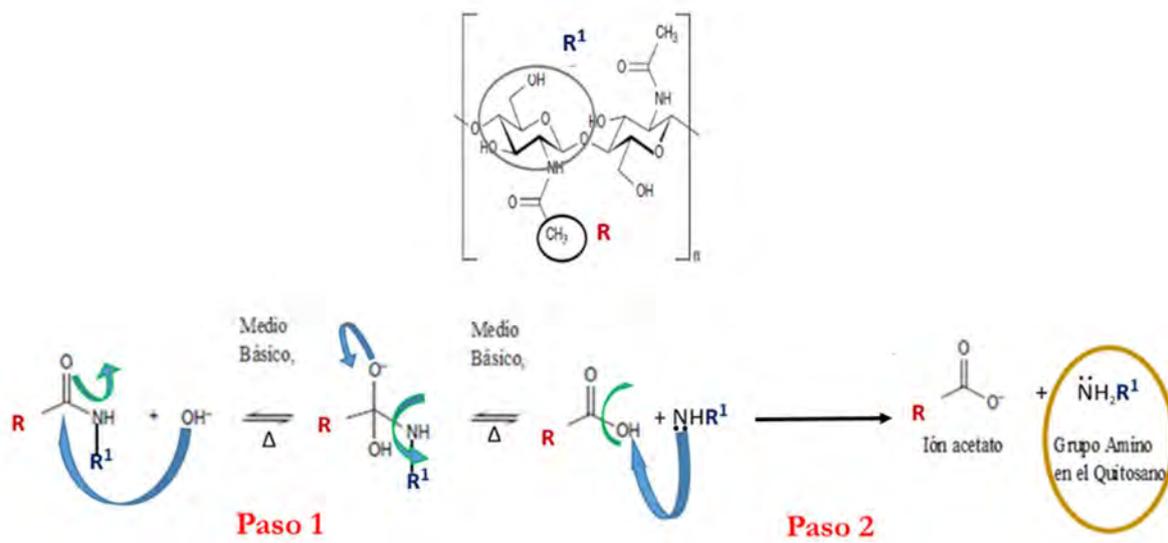


Figura 5. Proceso químico de N-desacetilación: hidrólisis básica.

El primer paso de este mecanismo, consiste en la adición nucleofílica del ión hidroxilo del medio básico, sobre el grupo carbonilo de la función amido, generándose cargas iónicas que se estabilizan debido al alto valor de la constante dieléctrica del medio acuoso.

En el segundo paso, se estabiliza el grupo amino de la molécula del quitosano, y se neutraliza el ión acetato con el catión de la base empleada (Na⁺ o K⁺).

Recientemente se ha planteado el uso de glicerina como un solvente alternativo en el proceso de hidrólisis alcalina⁴¹, lo cual permitiría reducir la concentración del hidróxido de sodio al 30%. Como consecuencia, esto favorecería la disminución de las cargas iónicas de los grupos hidroxilos en el medio, contribuyendo a evitar la ruptura de la cadena del polisacárido y por ende afectar su peso molecular.

Por otro lado, el proceso de hidrólisis enzimática representado en la Figura 6, resulta una alternativa ecoamigable, sustentable y más económica que el tratamiento alcalino industrial, sin embargo requiere de tiempos de reacción más prolongados y el uso de enzimas de alto costo. El proceso incluye etapas de destilación a presión reducida, incubación, diálisis, liofilización y caracterización molecular. Las enzimas empleadas son principalmente las quitinas desacetilasas extraídas de bacterias marinas, varios tipos de hongos y algunos insectos. Puede emplearse de forma única o combinada con la enzima acetilxilano esterasa para catalizar la reacción sobre la quitina, hidrolizando

el grupo acetamido presente en las unidades N-acetilglucosamina, y producir unidades de glucosamina y ácido acético³⁹⁻⁴¹.

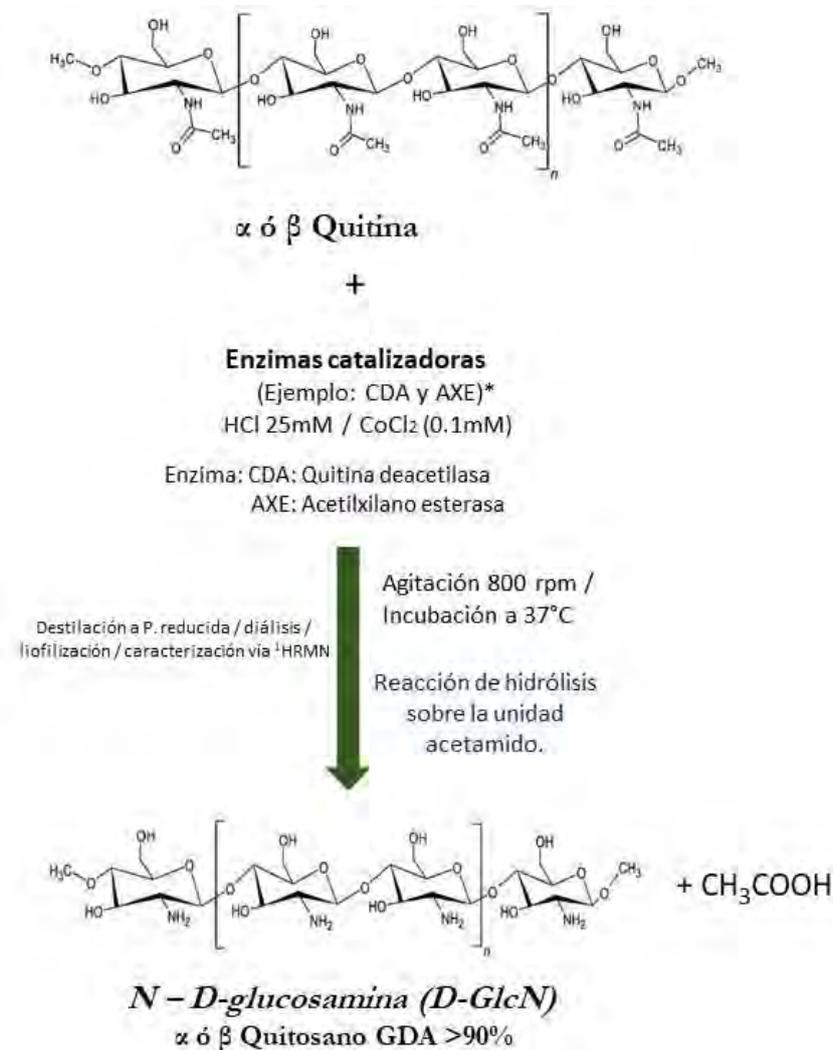


Figura 6. Proceso biológico de N-desacetilación: hidrólisis enzimática.

El quitosano resultante a través de estos procesos químicos y biológicos, es insoluble en solventes orgánicos, pero es soluble en soluciones acuosas a pH ácido, dada la presencia de los grupos aminos protonables, según se presentan en la Figura 7.

Los ácidos orgánicos más estudiados son el fórmico, acético, láctico, pirúvico y oxálico, mientras que los ácidos minerales fuertes que han sido recomendados son únicamente HCl y HNO₃²⁸. El ácido clorhídrico en particular, presenta una alta disociación en agua, por lo cual la fuerza iónica presente en la solución de quitosano es muy elevada. Se ha demostrado que además de solubilizar completamente al polisacárido, es capaz de producir una ruptura de su cadena molecular, conocida como

hidrólisis ácida, la cual afecta propiedades funcionales como la viscosidad y solubilidad⁴².

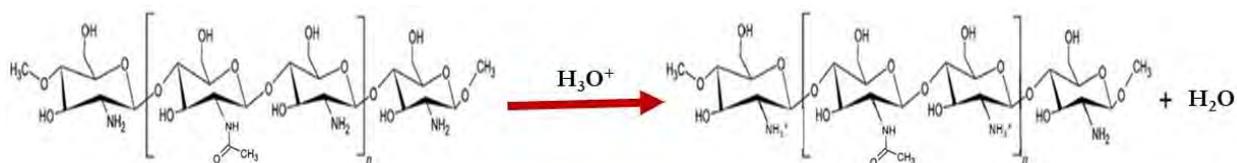


Figura 7. Proceso de solubilización del quitosano en medio ácido

El ácido acético por su parte, es empleado comúnmente a una concentración del 1% v/v para la disolución de este biopolímero. Debido a que su ionización en agua es más baja, brinda mayor estabilidad y completa solubilidad a la sal de acetato de quitosano favoreciendo su reactividad para obtener compuestos derivados.

II.4 Diferencias estructurales y cristalinidad de los quitosanos α y β :

Las propiedades y estructuras de las moléculas de los quitosanos α y β , han sido estudiadas empleando técnicas espectroscópicas, cristalografía y difracción de rayos X, entre otras. El ordenamiento tipo antiparalelo para el α - y el tipo paralelo para el β -proviene de las moléculas de quitina que le dan origen, y quizás sea la causa de sus comportamientos diferentes. Se ha demostrado que, aunque son moléculas químicamente similares, sus cambios en estructura geométrica y grado de cristalinidad, marcan la diferencia en sus interacciones intermoleculares con otros compuestos o soportes⁴⁷⁻⁵¹. La estructura antiparalela del quitosano α podría ser la responsable de la existencia de sus puentes de hidrógenos intra e intermoleculares y su mayor cristalinidad en relación al quitosano β .

Se conoce que los quitosanos con altos pesos moleculares, poseen estructuras mucho más compactas que los de bajo peso molecular, debido a que forman mayor número de enlaces de hidrógeno intramoleculares, que se enlazan con grupos aminos e hidroxilos presentes^{46,48}.

Las Figuras 8 y 9 representan los modelos estructurales de la quitina α y β reportados por Pillai y colaboradores⁴⁸, luego de realizar estudios con difracción de rayos X.

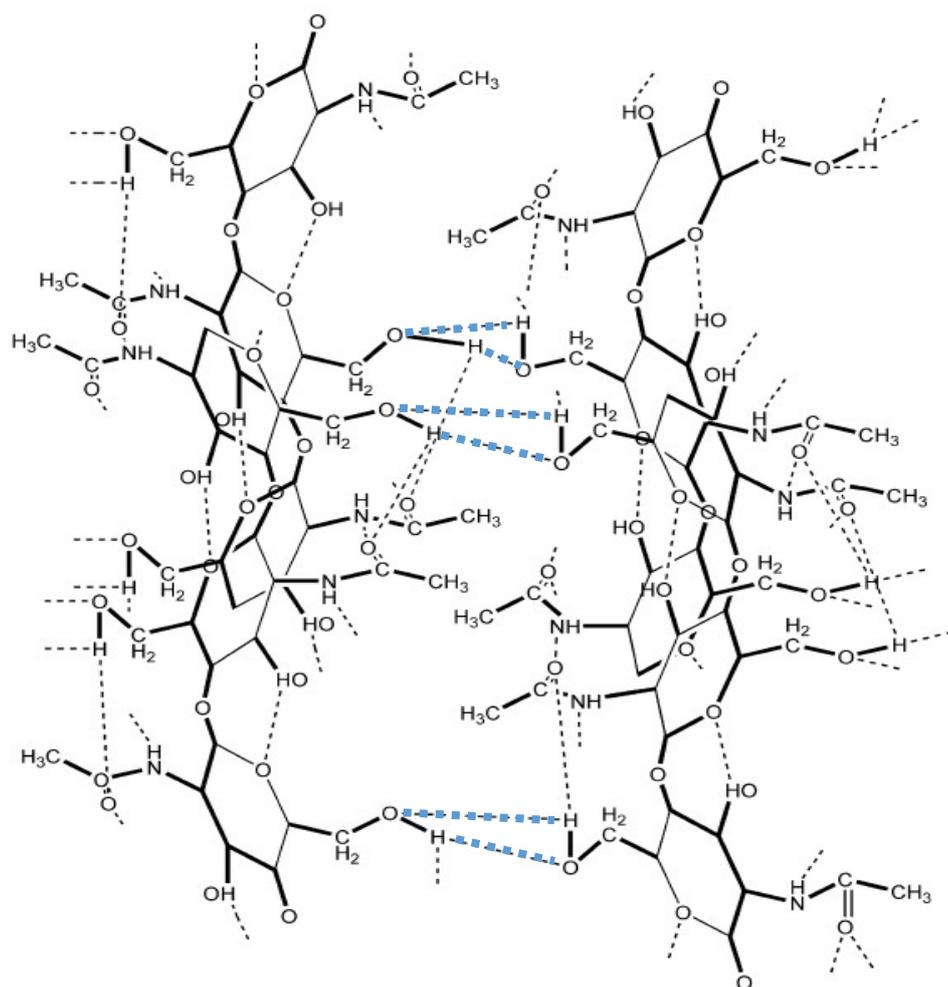


Figura 8. Estructura molecular representando los enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares presentes en la molécula de quitina α ⁴⁸.

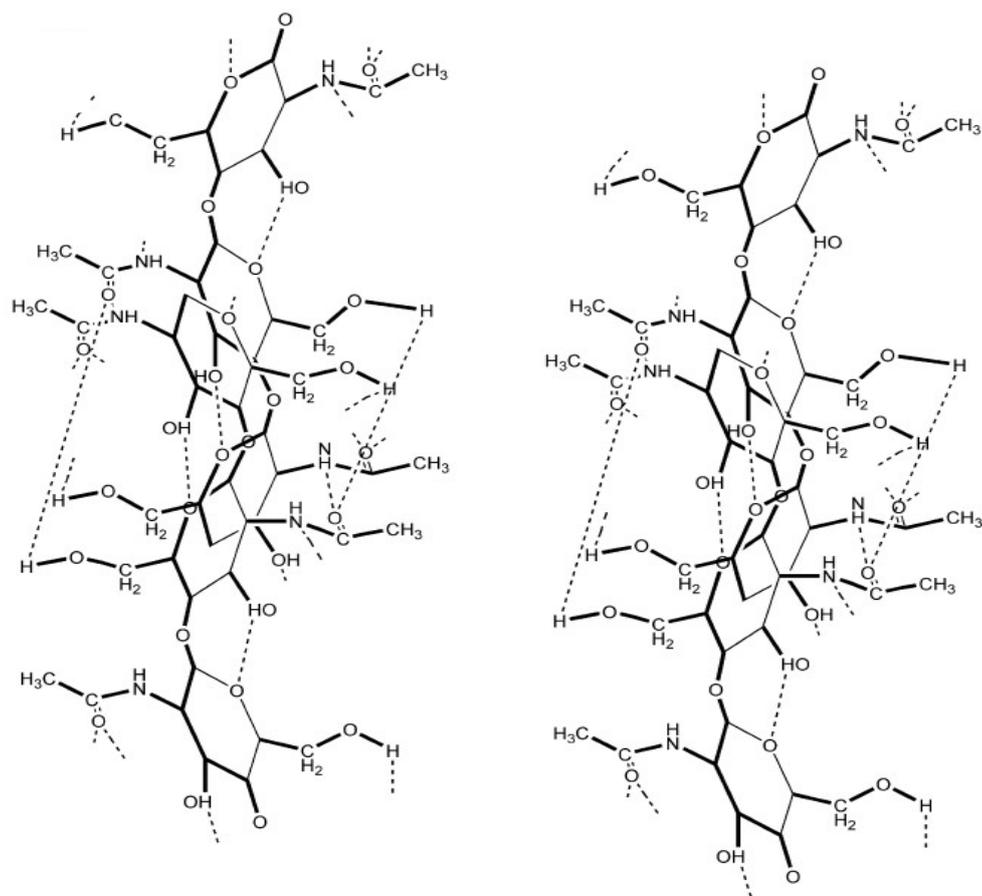


Figura 9. Estructura molecular representando los enlaces de hidrógeno intramoleculares presentes en la molécula de quitina β^{48} .

Las combinaciones de las moléculas de quitosano con otros polímeros como alcohol polivinílico, colágeno, polivinilpirrolidona, almidón, etc., han sido reportadas en la literatura^{35-37,43}. Nuevas estructuras moleculares resultan más o menos amorfas y/o cristalinas, lo cual ha permitido modular las propiedades mecánicas finales y hasta superar las de sus materiales de origen.

II.5 Reacciones de derivatización sobre el quitosano.

Numerosas modificaciones pueden ser realizadas hoy en día sobre la molécula del quitosano para diversificar sus aplicaciones finales, este proceso es conocido como derivatización. Las reacciones de sustitución química, elongación de cadenas a través de injertos o reticulación, cuaternización, despolimerizaciones, entre otras, se resumen en la Figura 10^{34,44,52}. Las reacciones de copolimerización también se han llevado a cabo con la molécula del quitosano⁵³⁻⁵⁵ y además sobre la quitina en polvo⁵⁶.

También se resaltan reacciones de modificación de grupos funcionales, que incluyen procesos como la formación de derivados aniónicos y anfotéricos del quitosano N, O-sustituidos bajo carboximetilación⁵⁵.

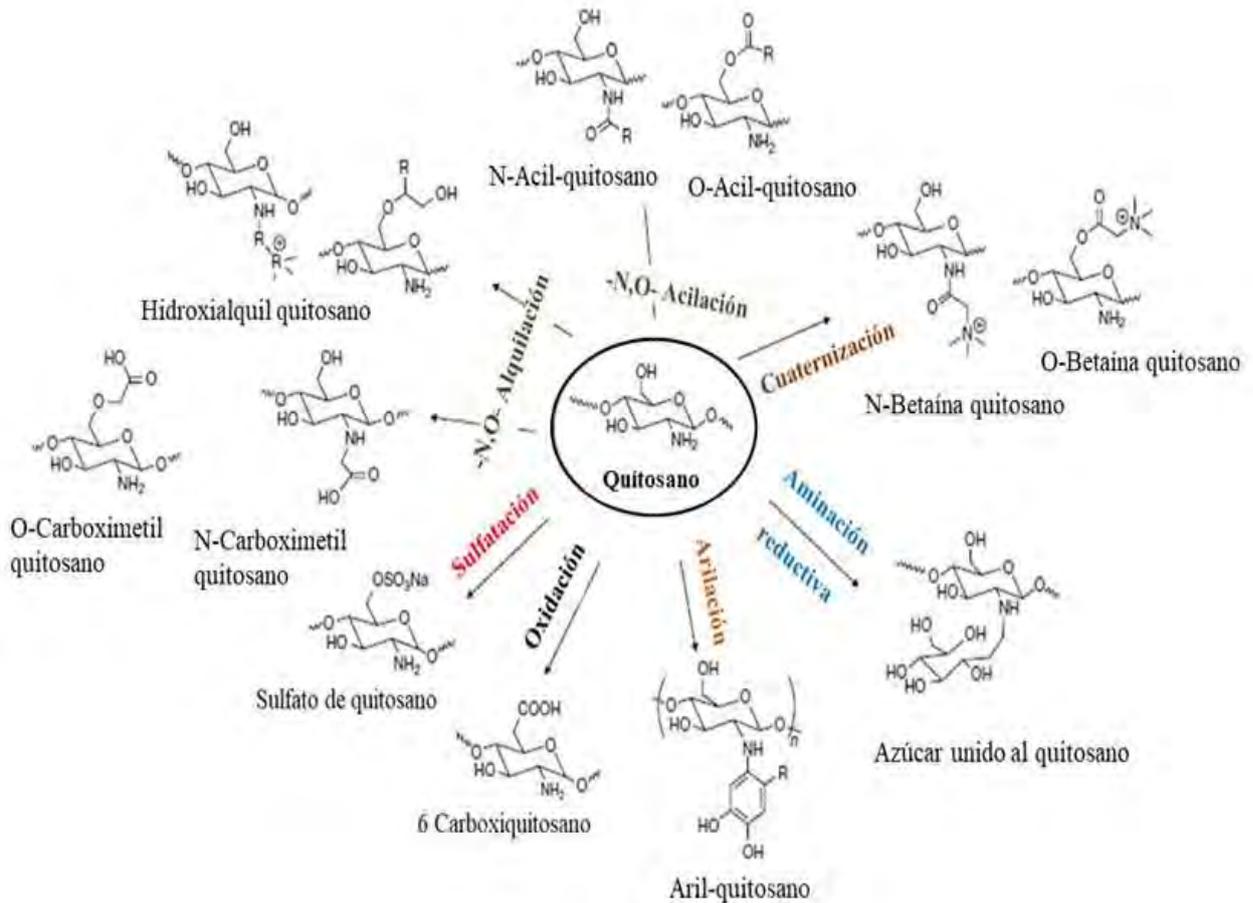


Figura 10. Reacciones de derivatización típicas sobre la molécula de quitosano²⁹.

II.6 Celulosa: Origen y estructura molecular

La celulosa es el polisacárido lineal más abundante de la naturaleza, y se encuentra en la pared celular de las plantas, aunque ya se ha demostrado su presencia en hongos, bacterias, algas y algunos animales⁵⁷⁻⁵⁹. Específicamente en las plantas, la celulosa se encuentra combinada con lignina y hemicelulosa. Esta última se compone de moléculas de heteropolisacáridos que combinan monómeros de diversos tipos de azúcares como galactosa, fructosa y glucosa.

La celulosa es un biopolímero renovable, biodegradable, sustentable, funcionalizable y de bajo costo, además de tener un elevado interés científico y consumo a nivel industrial⁷⁹.

Se conocen seis estructuras polimórficas de la celulosa: I, II, III₁, III₁₁, IV₁ y IV₁₁, las cuales pueden interconvertirse bajo reacciones específicas y de calentamiento. La celulosa I se encuentra en fuentes naturales, por lo que también es conocida como celulosa nativa. La celulosa II representa la segunda estructura más estudiada, y puede ser obtenida a partir de la celulosa I. Por su parte, las celulosas III₁ y III₁₁ se forman bajo un proceso reversible, a partir de las celulosas I y II respectivamente, empleando un tratamiento con amoníaco o aminas. Finalmente, las celulosas IV₁ y IV₁₁, se preparan calentando las celulosas III₁ y III₁₁ respectivamente, a una temperatura de 206°C en un medio de glicerina⁵⁸⁻⁶¹.

La celulosa es un carbohidrato polimérico compuesto por repetidas unidades monoméricas anhidras de β-D-glucopiranosas, representadas en la Figura 11. Estas fracciones se encuentran unidas por enlaces covalentes a las funciones acetal situadas entre el grupo OH de los átomos de carbonos C1 y C4 (β,1,4 glucano), lo cual corresponde a la forma biogénica de la celulosa.

Por tanto, la celulosa es un polímero con una cadena lineal muy extensa compuesta de numerosos grupos hidroxilos, específicamente tres por cada unidad de anhidroglucosa. La cantidad de unidades anhidroglucosa presentes, marca el grado de polimerización (GP) de la celulosa, el cual varía con el origen y el tratamiento que se aplica a la materia prima.

Para el caso de las fibras de celulosa natural, provenientes de la pulpa de madera, se estima entre 300 – 1700 su grado de polimerización (GP), mientras que la extraída del algodón y otras fibras de plantas, así como en la celulosa bacteriana, presentan un rango entre 800 – 10000.

Con respecto a la cristalinidad de la celulosa I, O'Sullivan⁵⁸ mencionó que a través de la técnica de difracción de RX, se determinó que las microfibrillas de la celulosa nativa tipo I que se obtienen de la madera, están compuestas entre 67-70% de fase cristalina y solo un 30-33% puede considerarse amorfa.

Por su parte, la celulosa II también conocida como celulosa regenerada, presenta un grado de polimerización entre 250-500 unidades repetidas por cadena de polímero⁶⁰. Esta celulosa forma enlaces de hidrógeno intermoleculares extras, unidos diagonalmente a la celda unitaria, lo que probablemente contribuye a que presente mayor estabilidad estructural, comparada con la Celulosa I^{58,60}.

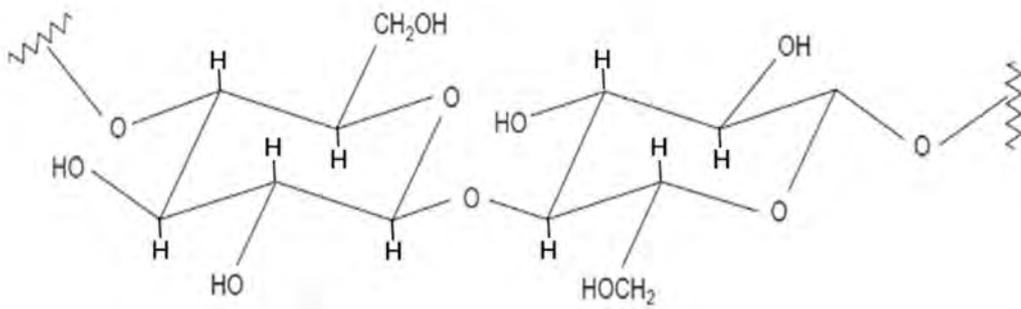


Figura 11. Unidad monomérica β -D-glucopiranososa presente en la celulosa⁵⁸.

La celulosa tiene una estructura molecular similar a la del quitosano y comparten el mismo enlace β -(1 \rightarrow 4) glicosídico. La principal diferencia es el grupo funcional presente en el carbono C2 de la molécula. Un grupo amino primario acompaña al quitosano mientras que el grupo hidroxilo acompaña toda la molécula de celulosa.

Las uniones β -(1 \rightarrow 4) glicosídicas, favorecen la formación de fuertes enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares bien definidos, los cuales se representan en la Figura 12. Este hecho origina que la estructura de la celulosa sea muy rígida, cristalina e insoluble en agua⁵⁹. La celulosa industrializada requiere de modificaciones químicas que adicionan nuevos grupos funcionales sobre las unidades repetidas de glucosa. Estas transformaciones se realizan con el objetivo principal de diversificar su funcionalidad y características de la macro cadena polimérica, entre ellas, quiralidad, hidrofiliidad, degradabilidad y reactividad⁶⁰.

A nivel industrial, las fibras de celulosa son tratadas mediante un proceso de blanqueado y alcalinización, en ocasiones con dióxido de cloro, ozono o mezcla ozono/peróxido. El proceso empleando dióxido de cloro, resulta ser el método más efectivo y común, ya que tiene el menor efecto sobre la modificación del grado de polimerización de la pulpa de celulosa I⁶⁰.

La celulosa tratada con dióxido de cloro se denomina industrialmente ECF (*elemental chlorine free*, por sus siglas en inglés) lo cual refiere a que no hay presencia de dioxinas u otros compuestos cancerígenos que se producen al emplear cloro gaseoso. Puede tener una morfología combinada entre fibras cortas y largas procedentes de árboles de distintas especies.

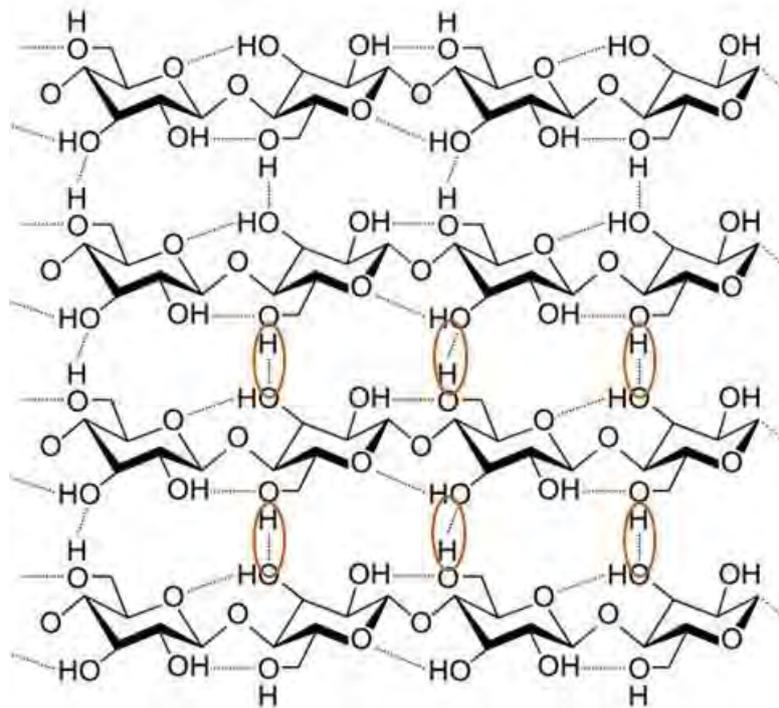


Figura 12. Enlaces intra e intermoleculares presentes en la estructura de la celulosa⁵⁹.

Adicionalmente, se conoce que el proceso de completo blanqueamiento con dióxido de cloro, ocasiona la remoción de la fracción amorfa de la estructura de la celulosa nativa de origen. Estas fracciones se componen de lignina, hemicelulosas y pectinas⁶². Por otro lado, si el proceso no se completa, los cambios en la celulosa serán solo superficiales, por lo que no se modifica el interior de las fibras, como consecuencia, se encuentran variaciones en los índices de cristalinidad final.

La pulpa de celulosa más empleada a nivel industrial para la fabricación de papel, es la que deriva de la madera, conocida como pulpa de madera Kraft. Esta contiene fibras de diferentes longitudes, densidades y características según la especie. Se clasifican como fibras cortas y largas de acuerdo al tipo de árbol del cual se originan. Ambas fibras son muy distintas en su morfología, composición química y resistencia mecánica. La pulpa de las fibras largas es la más utilizada en la fabricación de papeles de alta resistencia y como mejorador o refuerzo en el proceso de producción de papeles en general. Se asocia la alta resistencia o fuerza de esta pulpa, con la longitud de sus fibras, la cual es de 3 a 4 veces mayor que las fibras cortas⁶³.

Algunas especies de las que se extraen fibras largas son los árboles coníferos de hojas perennes como el Picea Scandinavian, Abeto Douglas, Pino Slash, Pino Lodgepole, Abeto Interior, Pino Loblolly. Por otro lado, las fibras cortas derivan de árboles frondosos y estacionales como el Aspen, Eucalyptus Globulus, Saligna, European Birch.

La fracción de celulosa presente en las fibras cortas y largas, se encuentra en el rango entre 41-49%, mientras que el contenido de hemicelulosa se ha reportado entre 23-34% para ambas³⁷. La mayor diferencia en la composición química de estas pulpas está en el contenido de lignina y los extractos, donde las fibras cortas tienen un 20% menos de lignina y hasta un 70% menos de extractos que las fibras largas. Estas características definen sus propiedades mecánicas y usos finales a nivel industrial³⁷.

La composición de estas fibras blanqueadas, se ha reportado superior al 94% de alfa celulosa, y la más comercializada se conoce como NBSK- EFC⁶³⁻⁶⁶. La clasificación de la celulosa como α , β o γ , se realiza aplicando la metodología TAPPI 203 de la Asociación Técnica de la Industria de la Pulpa y Papel de los Estados Unidos de América, la cual se realiza solo a las pulpas que han sido previamente blanqueadas o deslignificadas. La pulpa de celulosa es sometida a un proceso de extracción consecutiva con soluciones de hidróxido de sodio al 17.5% y al 9.45% a 25°C ^{67-69,110}.

La separación de estas tres fracciones de celulosa, es un procedimiento empírico, ideado originalmente por Cross y Bevan cerca del año 1900 y adoptado por primera vez como un método estándar TAPPI en 1931⁶⁸. Ha sido ampliamente utilizado hasta el presente, para caracterizar las pulpas empleadas a nivel industrial en la fabricación de papel y derivados de celulosa.

En general, la alfa celulosa es la fracción insoluble en la solución de álcali, e indica el contenido de celulosa de mayor peso molecular no degradado^{69,110}. La β y γ celulosa son las fracciones solubles, las cuales se determinan volumétricamente por oxidación con dicromato de potasio. La fracción γ celulosa se compone solo del polímero hemicelulosa en el cual se encuentran unidades de pentosas y hexosas^{67,68}, mientras que la fracción β se conoce como celulosa degradada y se compone de hidrocélulosa y oxicélulosa, cuyas cadenas son más cortas que la alfa celulosa. Esta fracción puede ser reprecipitada por tratamiento de la solución alcalina con ácido acético¹¹⁰.

Finalmente, se conoce que el soporte de celulosa, al estar compuesto por fibras de alta pureza, no sufre modificaciones en su estructura molecular cuando es sometido a una fuente de luz UV, incluso por períodos de hasta 10 horas¹⁰⁸. Esta molécula posee una completa estabilidad química molecular.

II.7 Aplicación de técnicas instrumentales, mecánicas y ópticas, para caracterizar las moléculas de quitosanos α , β y sus derivados.

Determinación del grado de desacetilación GDA

La determinación experimental del grado de desacetilación de la molécula del quitosano, puede ser realizada a través de diversas técnicas ampliamente estudiadas y reportadas como métodos eficaces y de distintos alcances.

Técnicas como las titulaciones conductimétricas y potenciométricas representadas en las Figuras 13 y 14, evidencian zonas específicas y puntos de equivalencia correspondientes a la reacción ácido base de neutralización de los grupos protonados del quitosano.

La Figura 15 muestra la técnica de IR-TF por integración de señales, considerando como más acertada la relación de las áreas correspondientes a las señales a 1420cm^{-1} y 1320cm^{-1} que los autores han podido precisar como en una ecuación de cálculo derivada de una curva de calibración^{70,71}.

Finalmente, la determinación de este parámetro del GDA bajo la técnica $^1\text{HRMN}$, ha sido utilizada como un análisis para el control de calidad y la certificación de la producción industrial del quitosano⁷². La Figura 16 evidencia la representación gráfica bajo esta técnica. Todas ellas representan metodologías que varían en precisión y complejidad⁵⁷⁻⁵⁹.

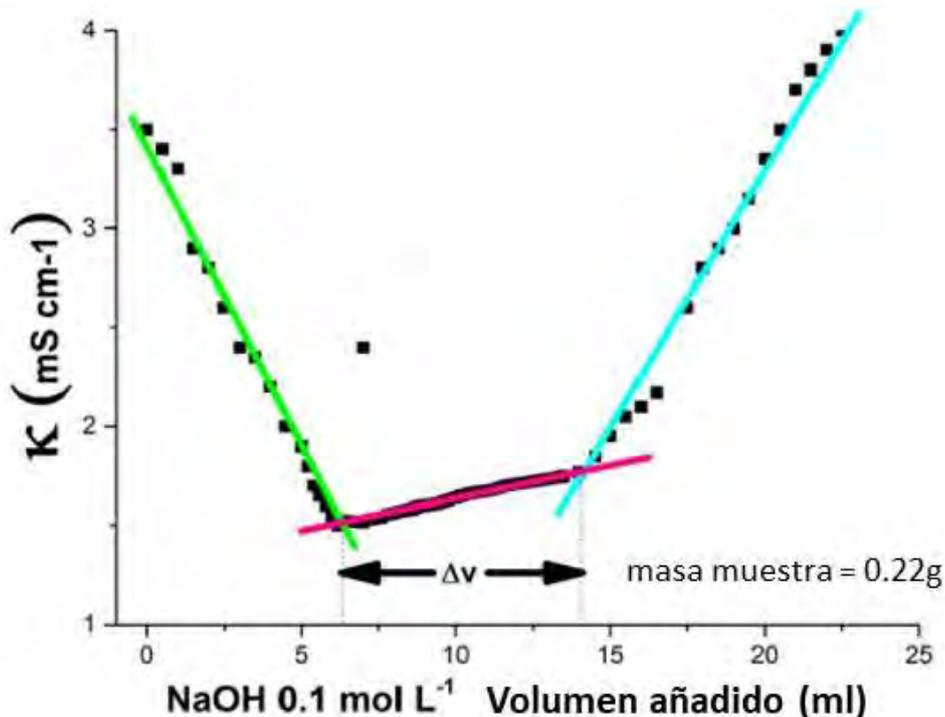


Figura 13. Técnica de titulación conductimétrica. Línea verde corresponde al exceso de H^+ . Línea roja representa la titulación de los grupos $-\text{RNH}_2$ del quitosano. Línea azul, exceso de NaOH ⁷².

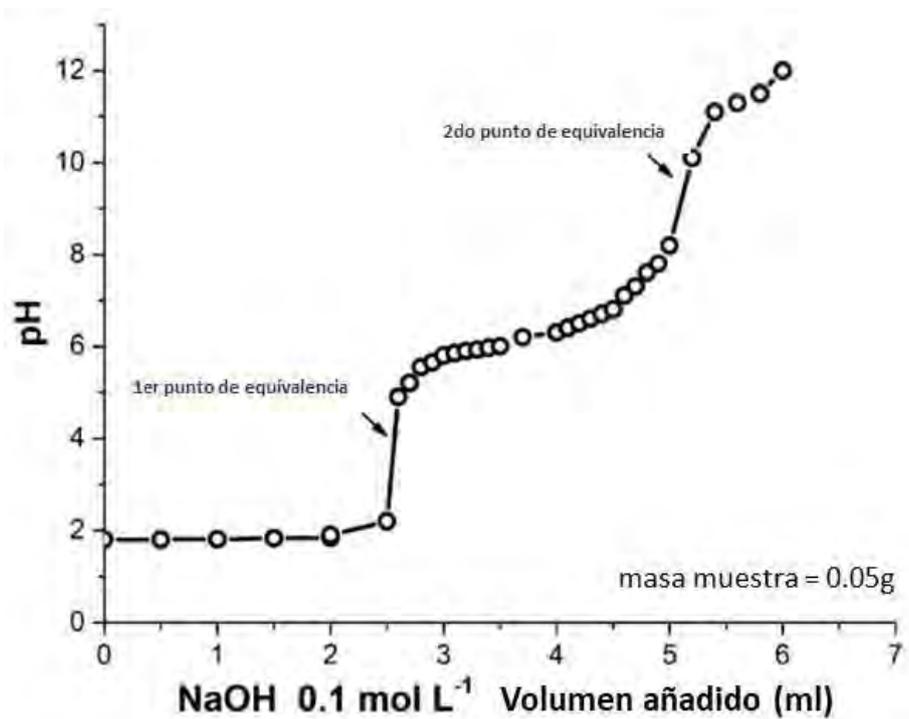
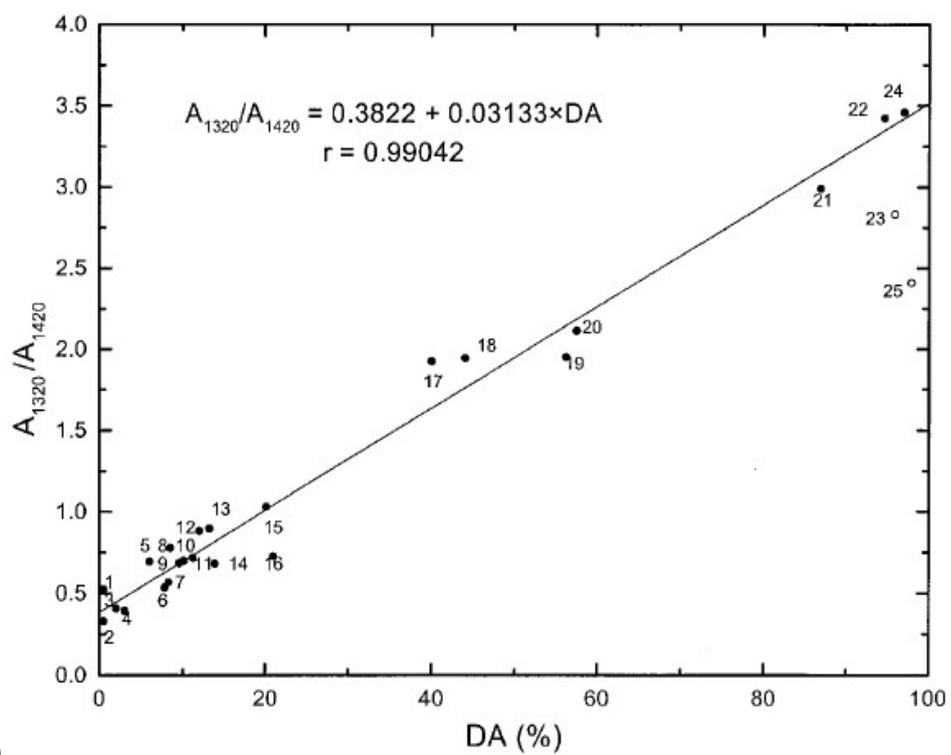
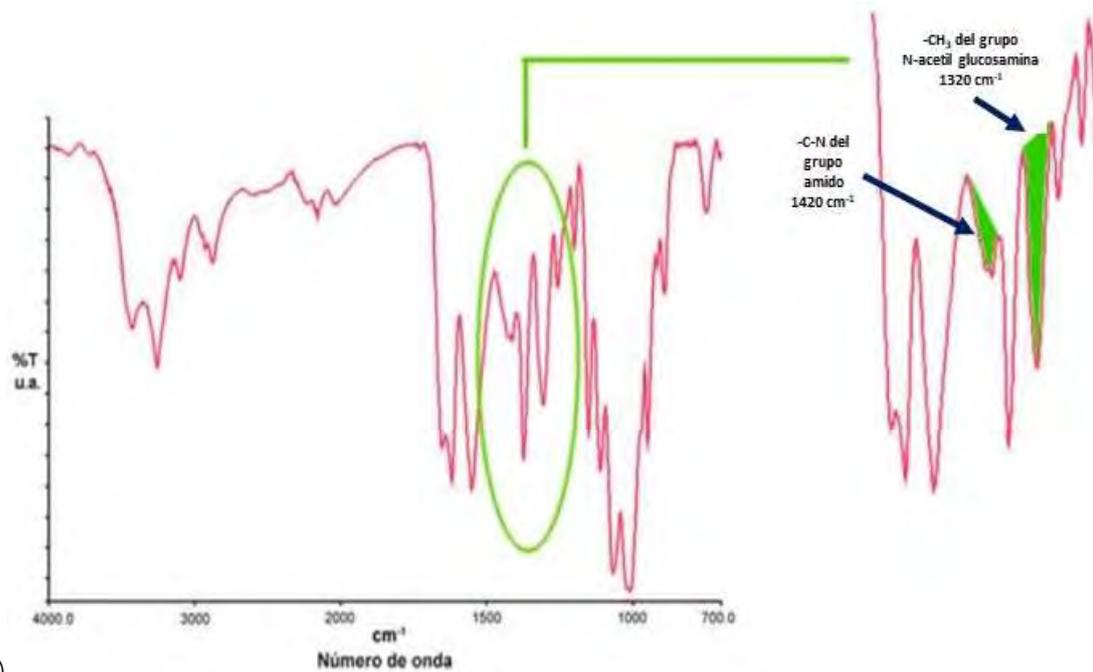


Figura 14. Técnica de titulación potenciométrica para el quitosano evidenciando dos puntos de equivalencia⁷².





b)

Figura 15. Técnica de integración de señales del espectro IR-TR del quitosano. a) Curva de calibración para la relación de áreas A_{1320}/A_{1420} ⁷⁰. b) Integración de señales para el quitosano⁷¹.

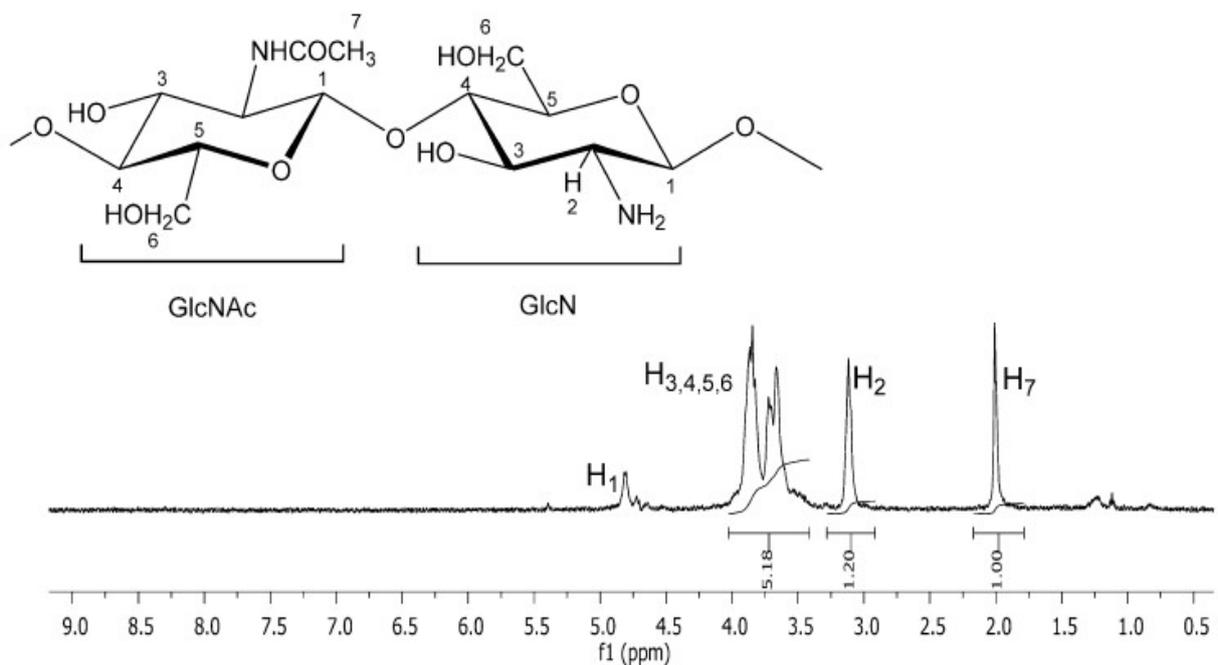


Figura 16. Espectro de protones por resonancia magnética nuclear (¹HRMN) del quitosano⁷².

II.8 Microscopía de Fuerza Atómica: Descripción general

En la técnica de microscopía de fuerza atómica o MFA, se emplea una punta muy afilada de silicio de longitud nanométrica, la cual está sujeta a un brazo voladizo flexible de nitruro de silicio. El equipo opera en modo medición de fuerzas de interacción y modo microscopio, generando curvas de fuerza e imágenes topográficas en 2D y 3D, que evidencian propiedades como la rugosidad y dureza de las superficies a nivel molecular. La Figura 17 representa los tres modos posibles de contacto entre la punta y la muestra: no contacto, contacto y contacto intermitente.

La punta realiza un escáner con precisión atómica a través de un desplazamiento en escala de 0.1nm, mientras hace contacto con la superficie bajo estudio, como se representa en Figura 18. Las fuerzas interatómicas o intermoleculares, son detectadas con una sensibilidad de 10 nN, y se reflejan gráfica y numéricamente a través de la respuesta de la deflexión y torsión del brazo voladizo⁷⁸.

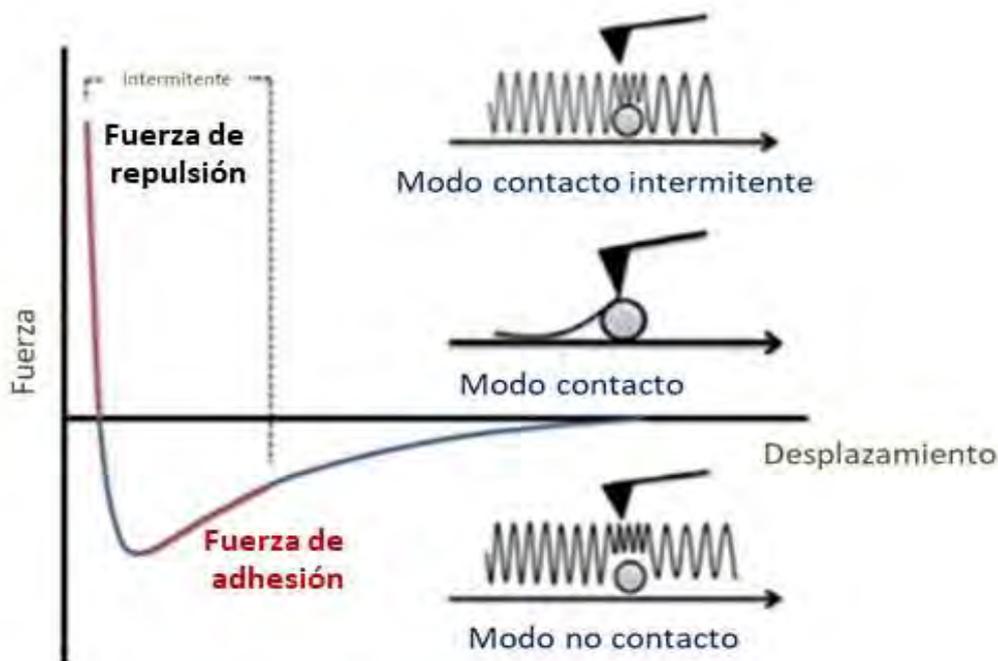


Figura 17. MFA (Microscopía de fuerza atómica) – Determinación de la fuerza de adhesión bajo 03 posibles modos de contacto, punta-muestra.

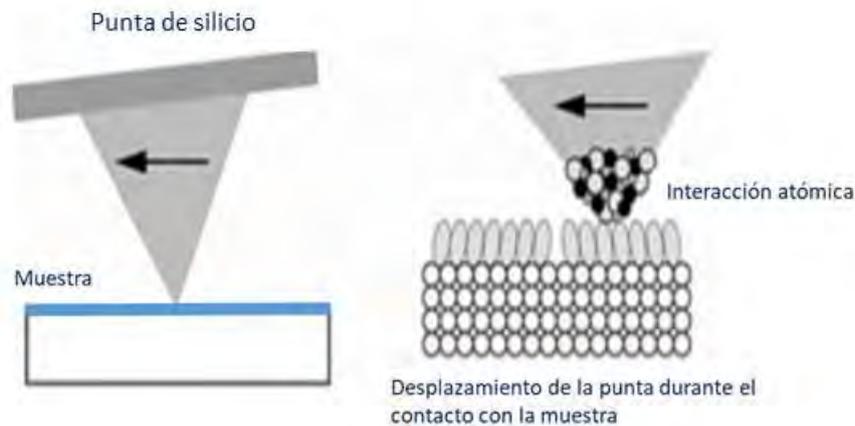


Figura 18. MFA (Microscopía de fuerza atómica) – Interacción atómica.

La interacción entre la punta y la muestra en un MFA, puede involucrar múltiples tipos de fuerzas, incluyendo las de tipo electrostáticas, tipo van der Waals y las repulsivas. La contribución relativa de cada tipo de fuerza puede variar según las características de la punta, la muestra y las condiciones experimentales.

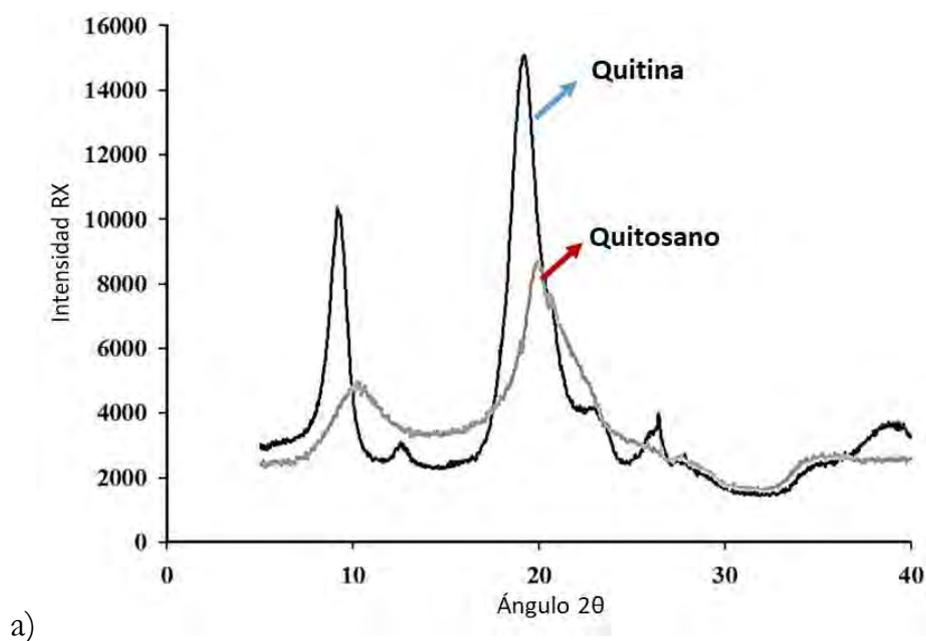
II.9 Difracción de RX: descripción general

Esta técnica es ampliamente utilizada para la determinación de estructuras cristalinas y la caracterización de una amplia variedad de materiales, minerales y polímeros en estado sólido (pulverizadas). Cuando los rayos X inciden sobre los planos de un cristal, estos son difractados por los átomos que lo conforman, produciéndose un patrón de interferencia constructiva o destructiva. Este patrón resultante, representa una huella dactilar de la estructura interna del cristal, y puede ser utilizado para determinar no solo la disposición de los átomos sino también la distancia entre ellos y su orientación relativa. Cuando el patrón de interferencia de las ondas sinusoidales de los rayos X es constructiva, se cumple con la Ley de Bragg y es posible cuantificar el índice de cristalinidad de una muestra, a través de la aplicación de ecuaciones matemáticas.

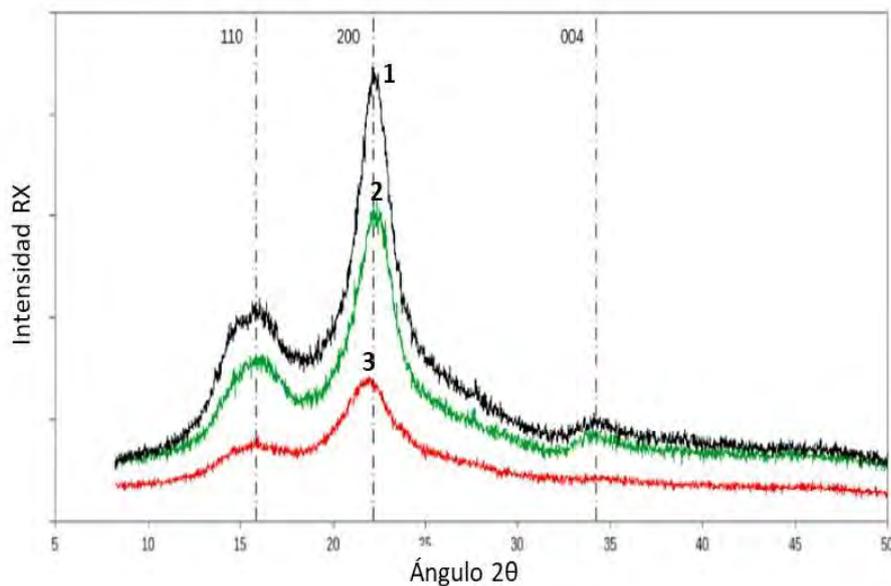
Las Figuras 19 a y b, representan un ejemplo de patrones de difracción de las moléculas de quitina, quitosano⁶⁹, alfa celulosa comercial, así como la molécula de alfa celulosa extraída de la planta *Meghatyrsus maximus* y su biomasa²⁵.

La técnica se aplica utilizando un difractómetro dotado de una fuente de emisión o ánodo de rayos X que emite la radiación a cortas longitudes de onda, entre 0.5 – 2.5 Å. Existen diferentes tipos de fuentes de ánodo, y se escoge la mas adecuada según la aplicación, el tipo de muestra y los requisitos de cada experimento. Las más comunes son la de cobre y molibdeno. La muestra pulverizada, se coloca en el camino de los rayos X y se rota en diferentes ángulos mientras se registran los patrones de difracción,

los cuales se derivan de la dispersión que realizan los átomos ante la radiación incidente. Esta técnica no es destructiva e invasiva, lo que significa que no se ve afectada la estructura o composición de la muestra.



a)



b)

Figura 19. Ejemplo de patrones de difracción: a) quitina y quitosano⁶⁹, b) alfa celulosa comercial (1), alfa celulosa extraída del *Meghatyrsus maximus* (2) y biomasa del *Meghatyrsus maximus* (3)²⁵.

II.10 Funcionalización de la molécula de quitosano vía fotorreacción UV tipo injerto.

El proceso de fotorreacción tipo injerto vía irradiación UV, consiste en modificar estructuralmente una molécula a través de una reacción de copolimerización empleando una fuente de irradiación de luz. En este proceso, se adicionan grupos funcionales en las posiciones reactivas de una molécula base bajo una modificación molecular tipo injerto. Varios autores han visto esta reacción como una opción eficaz para realizar reacciones fotoquímicas sobre el quitosano, irradiándolo con luz ultravioleta fluorescente⁷³⁻⁷⁵.

Las lámparas UV emiten una radiación amplia que abarca las longitudes de onda UVA, UVB y UVC (150 – 400nm), produciéndose una reticulación superficial de los polímeros, que deja inalterado el interior del soporte. La molécula de quitosano absorbe en la radiación UV en un rango entre 200 – 280 nm.

En este tipo de lámparas fluorescentes, la energía eléctrica se convierte en energía de excitación atómica ya que el tubo contiene vapor de átomos de mercurio. Por esta razón ha resultado ser una opción más rápida para iniciar reacciones químicas de polimerización, procesos de curado de adhesivos, tratamientos superficiales resistentes a rayas, huellas dactilares, etc. También se incluye en los procesos de impresión para el curado de tintas^{76,77}.

La molécula de polivinilpirrolidona (PVP) es un polímero sintético amorfo muy versátil, usado por muchos años en investigaciones de la industria farmacéutica dada su alta solubilidad en agua, baja toxicidad y estabilidad química. Es empleada como estabilizante de activos en sistemas transdérmicos, dispersante, recubrimiento de píldoras y espesante. Es también considerado un material biodegradable de amplio uso dentro de la industria alimenticia, cosmética, adhesiva y textil⁷⁶.

Es un polímero no iónico, ramificado, inerte, resistente a la temperatura, biocompatible y de pH estable. Posee propiedades humectantes, y tiene la capacidad de formar fácilmente películas, aun siendo higroscópico, debido a su alto nivel de absorción de agua, de hasta un 40% de su peso^{76,77}. Además, es capaz de absorber en el espectro UV en un rango entre 200 – 400 nm.

Conocida además como polividona o povidona, se obtiene a partir del monómero N-vinilpirrolidona por una reacción de polimerización vía radicales libres, la cual se representa en la Figura 20.

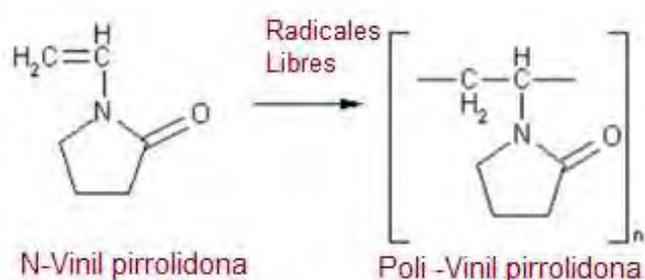


Figura 20. Obtención de polivinilpirrolidona vía radicales libres⁷⁶.

II.11 Funcionalización de la molécula de quitosano a través de la reacción de reticulación tipo base de Schiff.

Los agentes reticulantes, son incorporados en diversas reacciones para que puedan vincularse químicamente con la estructura de un polímero, favoreciendo la unión a través de enlaces iónicos o covalentes entre una cadena y otra. Estas reacciones comúnmente ocurren en fase homogénea o heterogénea empleando moléculas como glutaraldehído, epiclorhidrina, etilenglicol diglicidil éter, etc.

El proceso de reticulación se aplica para crear una red tridimensional que reduce la movilidad de la cadena polimérica, debido a la formación de nuevos enlaces intermoleculares que modifican al polímero. Este cambio en su estructura, se relaciona con la inserción de nuevos grupos funcionales, lo cual tiene una inherencia directa sobre parámetros como la flexibilidad, viscosidad y propiedades mecánicas del polímero resultante.

Las moléculas de quitosano pueden formar copolímeros a través de un proceso convencional debido a que el quitosano es disuelto en una solución ácida, formando un medio acuoso en el cual es incorporado el agente reticulante.

La sinergia entre la molécula de glutaraldehído y el quitosano a un pH controlado, se presenta a través de una reacción tipo base de Schiff, que ocurre directamente sobre los grupos aminos presentes en la estructura del quitosano¹⁰⁷. Cuando la molécula de quitosano presenta un alto grado de desacetilación (>90%), resulta indicativo de la presencia de numerosos grupos aminos reactivos en su estructura molecular.

La reacción de reticulación entre el quitosano y el glutaraldehído a bajas dosis, se ha relacionado con el incremento de la adsorción del biopolímero sobre soportes diferentes a la celulosa^{98,99}. También se ha confirmado que hasta una concentración del 6% de glutaraldehído, no existen riesgos de citotoxicidad entre estos compuestos⁹³. Este hecho ha permitido diversificar las opciones de aplicación de esta base de Schiff, siendo ampliamente estudiada en los diversos campos de investigación biomédica en

los cuales el glutaraldehído continúa siendo el más empleado sobre otras opciones de agentes reticulantes⁹⁴.

La formación de la base de Schiff es descrita en la Figura 21. Puede observarse que el grupo amino a través de sus electrones libres, ataca directamente al grupo carbonilo de la función aldehído, lográndose una estructura tipo puente entre estas moléculas. Esta reacción puede ser comprobada a través de estudios de espectroscopía IR-TF, ya que algunas señales son características para confirmar la presencia del grupo funcional imino formado durante la reacción tipo base de Schiff $-C=N-$ (entre 1620cm^{-1} y 1660cm^{-1})^{100,101}.

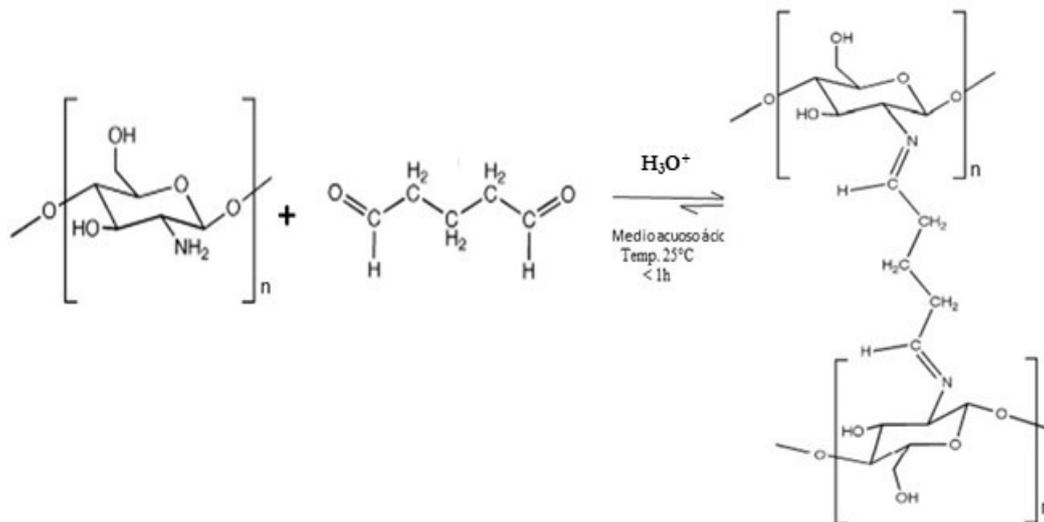


Figura 21. Reacción de reticulación entre el quitosano y glutaraldehído a través de la formación de una base de Schiff.

Otra posible reacción química menos común entre el quitosano y el glutaraldehído, es llamada reacción tipo Michael¹⁰⁰ la cual ocurre en medio acuoso alcalino. En este caso, se observa por la técnica de espectroscopía IR-TF, la presencia de una banda de grupo carbonilo $C=O$ entre $1720-1730\text{ cm}^{-1}$.

II.12 Fuerzas adhesivas – Contacto líquido-sólido.

La adhesión y la cohesión, son fenómenos que involucran un adhesivo, un adherente (soporte) y una interfase. La ciencia de la adhesión estudia los mecanismos fundamentales que intervienen en la unión de dos materiales, incluyendo fenómenos de humectación, difusión, interacción molecular y formación de enlaces químicos. Además, se incluye el entendimiento de los factores que influyen en la adhesión como el tipo de superficie, la rugosidad, la técnica de aplicación del adhesivo, el espesor de la capa de adhesivo y la energía de la superficie, entre otros.

Un adhesivo se describe como una sustancia química que se aplica básicamente sobre la superficie de dos materiales en contacto, desarrollando una fuerza capaz de crear una unión resistente. Contribuye a mejorar la distribución de tensiones en la unión adhesiva, logrando incrementar la resistencia a la fatiga. En general, un material adhesivo debe humectar o fluir sobre las superficies, desplazando todo el aire entre ellas y asegurando un buen contacto. La Figura 22 representa un esquema general de la unión entre ambos materiales.



Figura 22. Unión de soportes por un adhesivo.

Las fuerzas de adhesión, se relacionan con el conjunto de fuerzas de carácter fisicoquímico, que se desarrollan en una interfase adhesivo - soporte. Estas fuerzas mantienen unidos dos materiales de distinta naturaleza a través de un contacto interfacial íntimo, de manera que la fuerza mecánica o trabajo, se transfiere a través de la interfase. Se trata de las mismas fuerzas que enlazan átomos para formar moléculas y a su vez generar compuestos líquidos y sólidos. Todas estas fuerzas involucran desde atracciones tipo van der Waals, enlaces químicos y uniones electrostáticas. En la Figura 23 se puede observar esquemáticamente, la unión de las cadenas internas del adhesivo la cual se presenta como la fuerza de los enlaces intramoleculares del material (color azul). Por su lado, la fuerza de adhesión se representa como el contacto adhesivo-soporte (color rojo).

Por su parte, las fuerzas de enlaces se presentan cuando existe un íntimo contacto entre el adhesivo y el soporte. Estos enlaces se pueden clasificar en tres grupos principales. El primero de ellos son los enlaces primarios, compuestos por enlaces iónicos, covalentes y metálicos.

Los enlaces iónicos son los de mayor energía (600-1200 kJ/mol), seguidos de los covalentes, y ambos son ejemplos de enlaces químicos que proveen los más altos valores de fuerzas de adhesión. Por su parte, los metálicos se caracterizan por ser enlaces de mayor longitud (0.2 – 0.6nm).

Los enlaces secundarios, también conocidos como fuerzas de van der Waals, están compuestos por uniones de muy baja energía y de poca longitud, como son los enlaces dipolo-dipolo y dipolo-dipolo inducido. Estos se encuentran en un rango de energía entre 0.8 - 40 kJ/mol y sus longitudes no superan los 0.8 nm. Finalmente, los enlaces intermedios, son los que contemplan los enlaces de hidrógeno con menos de 40 kJ/mol y longitudes muy bajas de 0.3 nm⁸⁷.

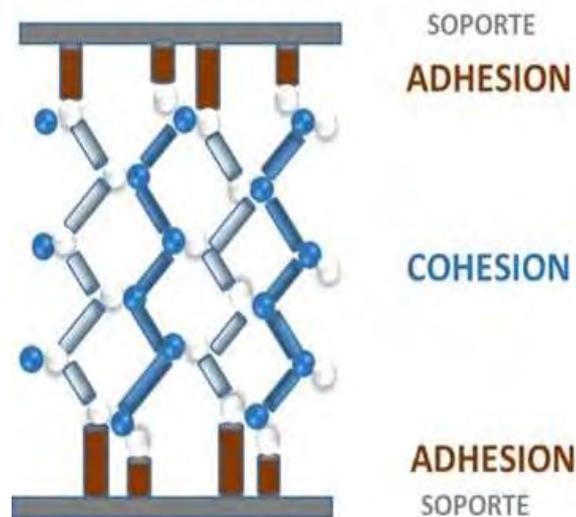


Figura 23. Formación de la unión adhesiva.

Por otro lado, la fuerza de cohesión, se define como el conjunto de fuerzas internas que mantienen unidas la estructura molecular de un adhesivo. Se conoce como la fuerza adhesiva intrínseca, presente en la fase interna de un material.

Los adhesivos como materiales, se pueden clasificar de acuerdo a su estructura química o funcionalidad. Además se han clasificado según su origen, sintético o natural. Entre los del tipo natural, se encuentran la cola animal, adhesivos a base de caseína y proteínas, así como los derivados del caucho. El grupo de adhesivos sintéticos comprende los del tipo acrílicos, epóxicos, siliconas, entre otros.

Las uniones adhesivo-soporte se caracterizan por distribuir uniformemente la tensión y poseer una mayor resistencia a la deformación, lo cual se presenta con soportes de variada morfología y espesor. Además, estas uniones resisten la fatiga y las cargas cíclicas, aíslan contra la transferencia de calor y electricidad y resultan ser más rentables que las uniones mecánicas.

Mientras que algunas desventajas, se relacionan con que estas uniones no permiten un examen visual del área de contacto, a menos que los soportes sean transparentes, se requiere una preparación de las superficies para asegurar la durabilidad de las uniones, pueden requerir tiempos de curado largos y su vida útil depende de las condiciones ambientales a las cuales se expone la junta adhesiva⁸⁹.

El fenómeno de adhesión también se describe a través de varias teorías que pueden reflejar el comportamiento intrínseco de esta unión.

II.13 Teorías que rigen la adhesión en la interfase adhesivo-soporte:

Principalmente se distinguen dos fenómenos basados en Teorías Físicas y Químicas, los cuales describen los distintos comportamientos que pueden evidenciarse en una unión adhesiva. Muchas veces estas teorías se combinan entre sí y limitan su total comprensión.

La Figura 24 resume gráficamente cada una de las teorías de adhesión que se presentan en una junta adhesiva.

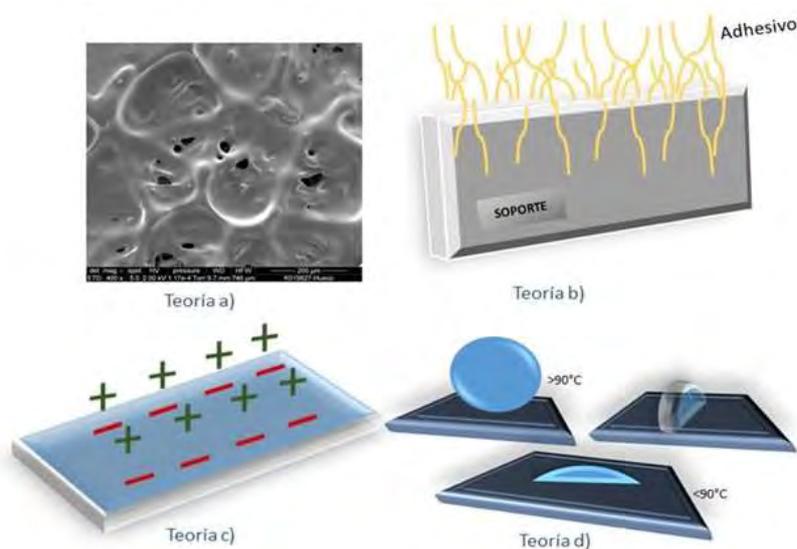


Figura 24. Diagrama esquemático de las teorías de adhesión: a) mecánica, b) difusión, c) electrostática, d) humectabilidad.

Dentro de las teorías físicas, se encuentra el **modelo de adhesión mecánica**, la cual representa la primera teoría de adhesión propuesta en el último siglo. En este caso, la fuerza de adhesión se presenta debido al anclaje del polímero adhesivo en los poros, cavidades, rugosidades y otras irregularidades del soporte; a través de un bloqueo interno (interlocking). Para que sea una unión eficaz, es preciso asegurar una buena humectabilidad microscópica por parte del adhesivo, dado que las cavidades no alcanzadas por este, constituyen puntos potenciales de iniciación de rotura de la unión adhesiva.

La fuerza de adhesión resultante, puede ser incrementada si se realiza una preparación previa de la superficie del soporte, removiendo impurezas (capas con enlaces muy débiles), incrementando así la humectabilidad, favoreciendo la deformación

viscoelástica del adhesivo. Las superficies de adherentes más rugosos producen una adhesividad mucho mayor que los adherentes de superficie lisa. Los más altos niveles de adhesión se pueden alcanzar cuando se mejoran las propiedades de la superficie adherente, por lo que la adhesión mecánica por interbloqueo se podría mejorar si se incrementa el área superficial⁹⁰.

La absorción es un factor muy importante para esta teoría de interbloqueo mecánico, debido a que esto regula la penetración del adhesivo en los poros o irregularidades del soporte. Por tanto, a mayor absorción se produce mayor adhesión por interbloqueo⁹⁰. Por dos décadas, el enfoque de esta teoría ha sido el área de micro y nanomateriales, sin embargo, ya hoy se cuenta con más ejemplos que representan este modelo. La adhesión de polímeros a fibras textiles y el metalizado sobre soportes poliméricos, previamente recubiertos con un tratamiento químico superficial, son dos casos muy comunes. En ambos casos, el entendimiento de la topografía del soporte es de relevancia para alcanzar la más alta adherencia⁸⁵.

Por su parte, la **teoría de la difusión**, desarrollada por Voyutskii y Vasenin, explica la autoadhesión de dos polímeros similares, como el resultado de la interdifusión de los extremos de las moléculas poliméricas del adhesivo y el adherente, lo cual ocurre a través de su interfase y en ambas direcciones. En este caso, las macromoléculas o segmentos de alto peso molecular, deben tener alta movilidad y poseer parámetros de solubilidad similares. El tiempo de contacto, la temperatura, el tipo de polímeros involucrados, sus pesos moleculares y la viscosidad, son parámetros que han sido medidos en estas juntas adhesivas para demostrar el modelo propuesto^{85, 88}.

La **teoría electrostática**, ha sido propuesta por Deryaguin desde 1948, y considera que el sistema adhesivo - soporte se basa en la doble capa eléctrica que se constituye cuando dos materiales de naturaleza diferente se ponen en contacto (ejemplo: polímero y vidrio). Algunos conceptos como campo eléctrico, ley de Coulomb, capacitor, fuerzas de van der Waals, constante de Hamaker, teoría DLVO, potencial Zeta y densidad de carga, son característicos del principio de la adhesión bajo esta teoría. Comúnmente es empleada para describir el comportamiento de la adhesión de polvos sobre soportes sólidos, o de líquidos con interacciones coloidales que han sido recubiertos sobre superficies rugosas o lisas⁹⁰.

La única **teoría química** descrita hasta el momento, es también conocida como la teoría de la adhesión termodinámica o humectabilidad. En este caso, se aplica para explicar muchas de las uniones adhesivas más empleadas en la actualidad, a través del desarrollo de fuerzas de humectación, las cuales se presentan en la interfase de contacto soporte-adhesivo. Es la teoría más aceptada y ampliamente estudiada⁸⁹⁻⁹¹. Las fuerzas involucradas en el fenómeno de humectación, se manifiestan a través de interacciones atómicas y moleculares, conocidas como enlaces primarios y secundarios

de tipo fuerzas de van der Waals e intermedios como los puentes de hidrógeno. Estos últimos, aun cuando se consideran más débiles, tienen un área superficial de contacto mucho mayor que en el caso de los enlaces covalentes. Al lograrse un íntimo contacto molecular en la interfase, los materiales forman un fuerte enlace adhesivo, asociado con la magnitud de las fuerzas interatómicas e intermoleculares características del interior del adhesivo (tensión superficial) y de las propiedades intrínsecas de los soportes (energía libre superficial).

Para entender este fenómeno de adhesión termodinámica, se debe considerar, además, que coexisten las siguientes energías: la fuerza entre moléculas y/o átomos, las fuerzas sobre las superficies, las fuerzas que atraviesan las superficies, y las interacciones físicas. La humectabilidad en una unión adhesiva, se refiere al desplazamiento del aire (o de otros gases) que realiza un adhesivo en forma líquida, cuando entra en contacto con un soporte. El resultado de una completa humectabilidad, se refleja por obtener la mayor área de contacto entre las partes, garantizando así el máximo desarrollo de las fuerzas de adhesión⁹¹.

Por tanto, la adhesión resulta del contacto a nivel molecular de dos materiales y del desarrollo de elevadas fuerzas superficiales. El primer paso en la formación del enlace adhesivo, es el desarrollo de fuerzas interfaciales, en las cuales el adhesivo requiere de una tensión superficial inferior a la del soporte. Un ejemplo común, es el tratamiento superficial de los plásticos, en el cual se incrementa su energía superficial y su polaridad, con lo cual se logra la mayor afinidad con el adhesivo líquido.

Para determinar la energía libre superficial en un soporte cubierto con un adhesivo, se emplea un método muy común conocido como medición del ángulo de contacto, el cual refleja de forma directa el grado de humectabilidad. Este ángulo dependerá de la masa de líquido depositada y/o sus propiedades reológicas.

El ángulo de contacto es el ángulo interno presente en una gota de líquido que está en contacto con un sólido. Este representa el equilibrio energético entre tres fases: sólida, líquida y vapor. Esta última fase en general es aire, la cual se encuentra completamente saturada con la fase vapor del líquido en la interfase microscópica en la que se realiza la medición.

Se considera que un líquido humecta a un sólido, cuando el ángulo de contacto es inferior a los 90° , lo cual sólo se produce cuando la tensión superficial del líquido es igual o inferior a la energía superficial del soporte. En caso contrario se afirma que no ocurre humectación de la superficie del sólido por lo tanto las fuerzas de adhesión resultantes, son muy débiles.

Dado que la tensión superficial crítica de un sólido está relacionada con su energía libre, esta se determina empleando varios líquidos estándares de tensión superficial conocida. Los valores obtenidos de ángulo de contacto, son graficados empleado diferentes técnicas de análisis, y a través de una extrapolación a 0° , se determina el valor crítico característico para un nuevo soporte⁸⁸. Uno de estos métodos es conocido como “gota sésil”, el cual es el más común y se reconoce como la técnica de medición estática. Otros métodos como la técnica de plato de Wilhelmy, la ecuación de Washburn, Owens y Wendt, Chibowski y Zisman, también han sido relevantes para la literatura⁹⁰.

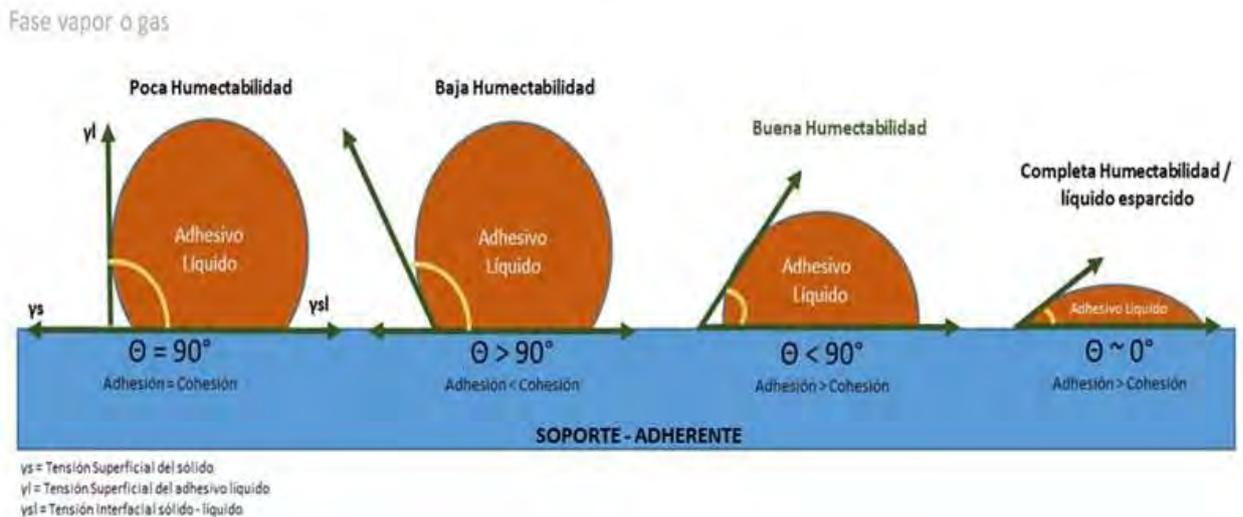


Figura 25. Diagrama de interpretación del ángulo de contacto

La Figura 25 representa esquemáticamente las tensiones involucradas en la medición del ángulo de contacto bajo el método de gota sésil. Además, se identifica en qué casos se tendría mayor fuerza de adhesión que de cohesión ya que se favorece o no la humectabilidad.

II.14 Fuerzas de adhesión bajo estudios fisicomecánicos de tracción.

La fuerza de un enlace adhesivo, representa la máxima carga o tensión que una unión adhesiva puede soportar antes de romperse o desunirse. Esta fuerza puede cuantificarse a través de métodos de corte o pelado que incluyen la contribución de las fuerzas interfaciales, así como la energía de disipación asociada con la deformación interna del adhesivo y el soporte.

La determinación experimental de la fuerza adhesiva puede ser estudiada bajo metodologías que difieren en sus modos de aplicación de tensión sobre el enlace adhesivo. Además, se evalúa su propagación interna hasta que se alcanza el colapso del contacto intermolecular, lo cual se conoce como despegue o desunión.

La magnitud y la forma como ocurre esta ruptura, dependen de una variedad de factores como la geometría de la junta adhesiva, la metodología empleada para estudiar el despegue de los cuerpos en contacto, y el espesor de la película de adhesivo. Adicionalmente, la velocidad a la cual se realiza el método y las propiedades internas de los materiales, como el tipo de adhesivo y morfología de los soportes, son características igualmente relevantes.

A través de experimentos fisicomecánicos, empleando equipos de tracción (tensión-compresión), se pueden realizar ensayos de pelado empleando diferentes ángulos de corte y velocidades de desplazamiento de la máquina. De esta forma es posible cuantificar la máxima fuerza adhesiva superficial, evaluada a través de una curva de tensión - desplazamiento.

El método de pelado en conformación T, ha sido evaluado por varios autores⁷⁸⁻⁷⁹ como un tipo de ensayo de tracción o corte fisicomecánico realizado para determinar la fuerza de adhesión (por unidad de ancho) que se requiere para romper el enlace entre el adhesivo y el soporte.

Los soportes deben ser recubiertos con una cantidad fija de adhesivo, la cual se controla a través del proceso de recubrimiento seleccionado (técnicas de recubrimiento)⁸¹⁻⁸⁴.

La Figura 26 describe el sentido de la fuerza necesaria para la separación o despegue de dos soportes unidos por un material adhesivo, en cuya unión existe una tensión y una disipación de energía.



Figura 26. Descripción del sentido de la fuerza y desplazamiento en un ensayo de tracción⁷⁹.

La fuerza de tracción aplicada, origina una disipación de energía durante la deformación del cuerpo de prueba, por parte del adhesivo y del soporte, lo cual se presenta en el sentido de orientación representado en la Figura 27.

Estos ensayos son realizados por un equipo mecánico que aplica una fuerza y realiza un estiramiento ascendente sobre el cuerpo de prueba en un ángulo específico de 90° o 180° , tal y como se describe en la Figura 28. Los ensayos con estas características se les conoce como ensayos de resistencia al pelado debido a que la tracción aplicada ocasiona la ruptura de la unión adhesivo – soporte.

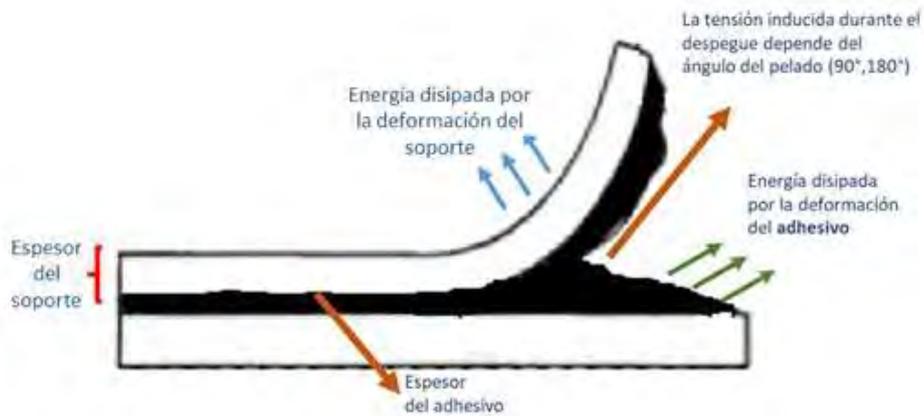


Figura 27. Descripción de las energías disipadas durante un ensayo de corte o tracción.

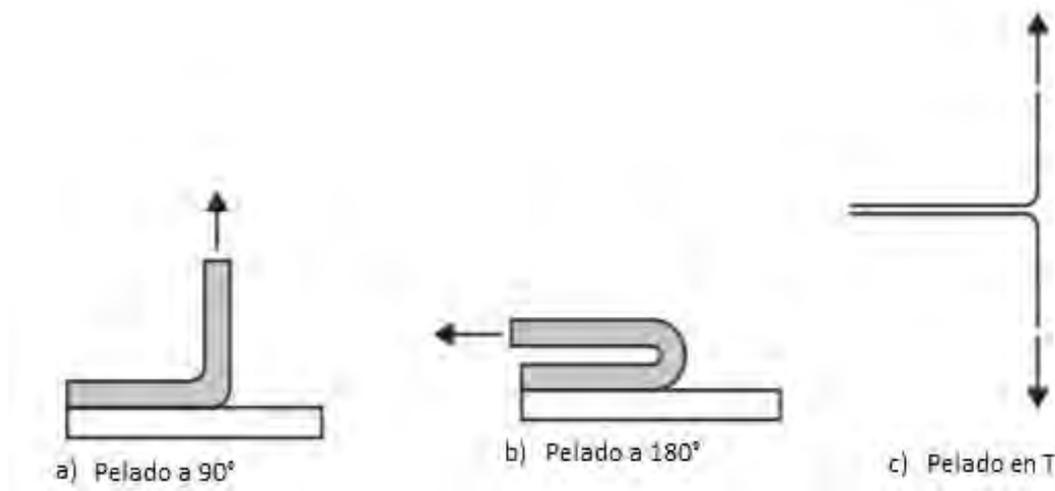


Figura 28. Tipos de ensayos de resistencia al pelado para medir fuerza de adhesión⁸¹: a) ángulo de 90° , b) ángulo de 180° y c) pelado en conformación T.

La velocidad de recorrido ascendente es fija durante el despegue del cuerpo de prueba. Las condiciones de humedad y temperatura deben ser constantes durante el

acondicionamiento de las muestras (temperatura 23°C y humedad: 50%) para evitar cualquier cambio en la unión adhesiva.

En un ensayo de tracción por resistencia al pelado, la carga aplicada es transmitida completamente al enlace del adhesivo. En particular el método a 180° y en conformación T, permiten determinar la energía total disipada considerando las contribuciones adhesivas y cohesivas presentes en la interfase adhesivo-soporte⁷⁸. La reproducibilidad de estos resultados depende de la uniformidad de la capa de adhesivo recubierta sobre el soporte.

La adhesión se rige por modificaciones interfaciales que ocurren debido a la aplicación de un esfuerzo de corte inducido, lo cual produce fallas en la unión de dos cuerpos. Cuando las fallas se presentan en el interior del adhesivo, del soporte o en la interfase adhesivo-soporte, se pierde el equilibrio termodinámico alcanzado.

La unión del adhesivo con el soporte está sometida a un alto esfuerzo de corte que refleja las deformaciones del enlace y las deflexiones longitudinales y transversales que se presentan al momento de una falla. El espesor del adhesivo presente en esta junta, ha sido considerado de interés debido a la relación directa con el desplazamiento asimétrico de un cuerpo de prueba fallado⁸⁶.

Las fallas que pueden presentarse en una unión adhesiva, se describen esquemáticamente en la Figura 29. La primera de ellas se conoce como falla cohesiva, en la cual la estructura polimérica del adhesivo, se rompe internamente por una fractura molecular. Ambos lados del soporte quedan con capas irregulares de la película de adhesivo. La segunda se conoce como falla adhesiva, en la cual las fuerzas de interacción entre el adhesivo y el soporte, resultan muy débiles, por lo que no se alcanza el equilibrio termodinámico. Adicionalmente, se puede presentar una falla de soporte, la cual refleja que la conformación molecular del adherente es débil, en cuyo caso, el soporte colapsa, quedando intacta la junta adhesiva. Esta última, también se conoce como falla por delaminación del soporte.

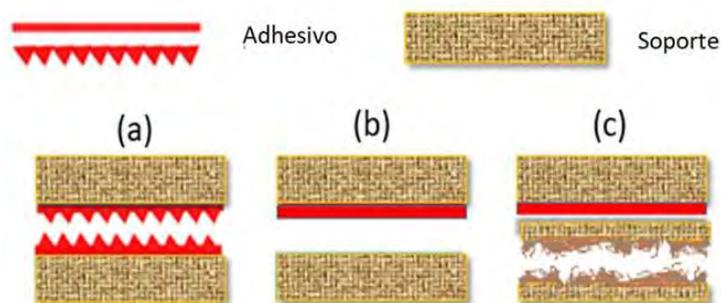


Figura 29. Tipos de fallas en la unión adhesivo-soporte: a) cohesiva, b) adhesiva, c) falla de soporte (delaminación).

Cuando no ocurre delaminación del soporte, o una falla cohesiva debido a la inestabilidad de la estructura interna del polímero, el método de resistencia al pelado en conformación T se reproduce con precisión y repetibilidad. Los valores representativos de la fuerza de adhesión, son reportados en unidades de Newton, gramos-fuerza o libras-fuerza, y se genera una representación gráfica fuerza-desplazamiento.

Las múltiples mediciones de fuerza de adhesión que son detectadas durante el desplazamiento ascendente de la celda de carga del equipo de tracción, se grafican durante el avance del ensayo, lo cual se representa en la Figura 30. Estos datos permiten al software calcular el valor de fuerza de adhesividad promedio, además de cuantificar los límites de fuerza máxima y mínima, así como el trabajo de adhesión W_A , cuantificado como la integración del área bajo la curva⁷⁹.



Figura 30. Representación característica del ensayo de resistencia al pelado en conformación T⁸⁰.

Los métodos de resistencia al pelado han resultado muy útiles para realizar comparaciones entre varios tipos de adhesivos (polímeros de distintos pesos moleculares, moléculas reticuladas, adhesivos naturales o sintéticos, etc). Por otro lado, al variar el espesor de la película adhesiva, tipo de soporte (flexibles, rugosos, porosos, elásticos, plásticos, etc), o modificar la velocidad de medición, se diversifica la aplicabilidad del método. Este ensayo incluso llega a ser un procedimiento rutinario de control de proceso en plantas industriales.

La efectividad del método ha sido publicada para evaluar aplicaciones como: laminados flexibles, juntas adhesivas poliméricas, formación de películas para dosificación de medicamentos incluyendo mucoadhesión y fabricación de parches, electrodeposición sobre materiales no conductores^{78,82-84}.

La cuantificación experimental del trabajo del adhesivo W_A , también es posible a través de métodos fisicomecánicos, considerado este término como un sinónimo de la energía asociada a la fractura de una junta adhesiva⁸⁰.

II. 15 Ruptura de una unión adhesiva

Por otro lado, las uniones adhesivas también han sido estudiadas a través de modelos matemáticos y comportamientos gráficos que describen como ocurre el colapso del enlace entre el adhesivo y el soporte. Autores como Goland y Reissner hace más de 40 años, inspiraron en 1982 a Kinloch⁸⁵ a estudiar extensamente la ciencia de la adhesión y sus fallas.

En el 2013 Ojalvo y colaboradores⁹⁶, estudiaron analíticamente, la influencia del espesor de la capa del adhesivo en la distribución de la tensión sobre esta unión, introduciendo esta variable en las ecuaciones diferenciales previamente planteadas. Su estudio demostró que la diferencia en espesores genera dos puntos asimétricos en la interfaz de contacto, demostrándose que el esfuerzo cortante es más alto en esas zonas y por ende ocurre la falla.

Mayores o menores grados de fallas, también dependen de la composición elástica y plástica del adhesivo, así como de la tensión a la cual se somete la unión⁹¹.

Para asegurar el éxito de una unión adhesiva, además de garantizar su prolongada vida útil, es importante considerar en primer lugar, la limpieza del soporte, ya que debe estar ausente de cualquier suciedad, grasa, humedad y capas de óxido.

Por otro lado, la temperatura de aplicación del adhesivo y la presión a la cual se somete la unión, también se consideran relevantes, así como el tiempo de espera necesario para garantizar el curado máximo y la solidificación del adhesivo sobre el soporte.

El método por el cual el adhesivo líquido se solidifica, depende del tipo de adhesivo y la forma en la cual ocurre su cambio de estado, por lo que los siguientes procesos resultan ser los más comunes: reacción química por combinación de calor, presión y agentes de curado, enfriamiento a partir de un líquido criogénico y secado como resultado de la evaporación del solvente.

II. 16 Otros bioadhesivos naturales de uso comercial.

Los adhesivos de origen natural, son empleados en el campo industrial desde hace muchos años. Estos materiales fueron conocidos inicialmente con nombres generales como cementos, gomas, mucílagos, morteros, resinas y pastas, antes de ser clasificados como adhesivos y sellantes.

La primera planta de adhesivos comerciales fue fundada en Holanda en 1690 y los adhesivos a base de almidón fueron usados en las estampillas de correo cuando estas aparecieron por primera vez en 1840, mientras que la primera patente sobre adhesivos a base de dextrinas, se hizo pública en 1867.

Posteriormente apareció la primera patente sobre adhesivos de caseína en 1876 (U.S Patent 183,024) los cuales se fabricaron inicialmente en Alemania y Suiza.

Otras opciones también derivadas de fuentes de origen animal y natural son los adhesivos vegetales, dispersiones de caucho, adhesivos rosínicos, ceras naturales y sus combinaciones. El quitosano también ingresa a esta lista como derivados de fuentes marinas y vegetales.

Todos ellos han sido de interés para diversas aplicaciones, debido a que su costo de obtención es mucho menor que los de origen sintético, lo que favorece a este mercado de adhesivos. Además, son empleados a bajas dosis y al derivarse de fuentes inagotables los hace muy atractivos para aplicaciones industriales de alto consumo.

Todo esto ha impulsado nuevas innovaciones para mejorar las fórmulas empleando aditivos químicos, nuevas máquinas de mezclado con más tecnología, pero, además, en el campo científico, a crear moléculas derivadas, las cuales pueden ser moduladas para controlar sus propiedades adhesivas y además generar procesos de producción más eficaces¹⁰².

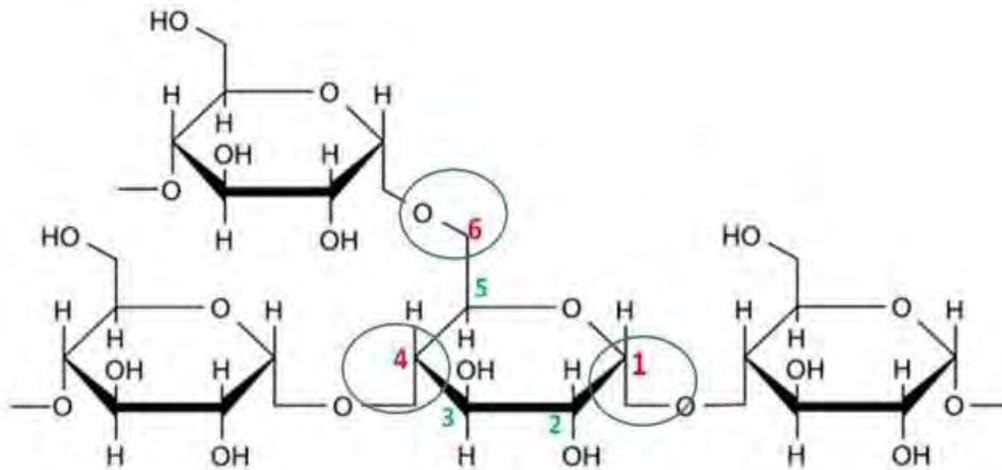
En particular los adhesivos a base de almidón o fécula, se componen de dos polisacáridos, el principal es la amilopectina (75%), cuya estructura es entrecruzada con enlaces α 1,4 y α 1,6. El restante 25% corresponde a la molécula de amilosa, la cual es lineal y helicoidal, además, tiene menor peso molecular que la amilopectina. Ambas moléculas se representan en la Figura 31. Este tipo de adhesivos han sido empleados desde el año 1900 en la industria de fabricación de corrugados y láminas de cartón de fibras sólidas, así como en otras aplicaciones^{103,104}.

En 1934, Jordan C. Bauer de Stein-Hall Company desarrolló el primer adhesivo a base de almidón cocido. Hoy en día, este método Stein-Hall sigue siendo la base de los adhesivos de almidón modernos en la industria cartonera. Varios han sido los intentos comerciales para introducir alternativas de adhesivos incluso de origen inorgánico como el silicato de sodio, pero hasta ahora todos estos proyectos han sido poco exitosos^{102,105}.

Sin embargo, algunas desventajas se mantienen presentes en los procesos industriales que emplean el almidón como adhesivo, estos son:

a) Estricto control de la viscosidad y de las temperaturas de cocción, b) corta vida útil, c) elevados tiempos de limpieza de maquinarias, boquillas dosificadoras, inslataciones en general debido al manejo de gran cantidad de material en polvo, d) incremento en gastos de mano de obra, e) manejo de sustancias corrosivas como el hidróxido de sodio, entre otras.

a)



b)

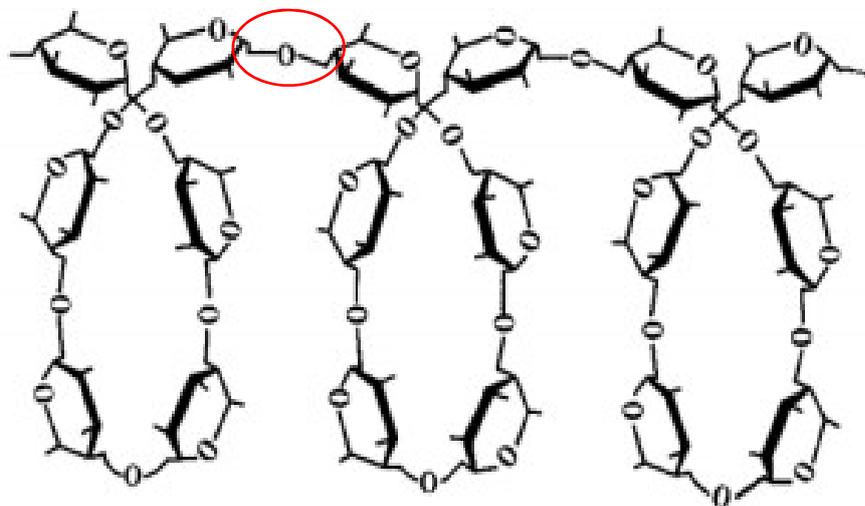


Figura 31. Composición de la molécula de almidón: a) Amilopectina y b) Amilosa¹⁰³.

La fórmula más conocida desde hace más de 80 años para preparar adhesivos a base de almidón cocido, contiene: agua, almidón a base de maíz, trigo o yuca, hidróxido de sodio y tetraborato de sodio¹⁰⁵.

CAPITULO III. REACTIVOS, EQUIPOS Y MÉTODOS EXPERIMENTALES

A continuación, se describen los detalles de todos los productos químicos empleados, así como los equipos de laboratorio involucrados en la ejecución de los experimentos de caracterización de los quitosanos y el estudio de sus derivados funcionalizados.

Adicionalmente se describen las metodologías de recubrimiento, la medición de la fuerza de adhesión bajo el método de tracción en conformación T, y la determinación del ángulo de contacto por microscopía óptica. Todos estos métodos resultan comunes en el desarrollo experimental de los objetivos planteados.

III. 1 Reactivos

Descripción de muestras de quitosanos:

Se seleccionaron 02 productos comerciales de alta pureza, con grados de desacetilación y pesos moleculares similares, a fin de reducir el número de variables fisicoquímicas, y dirigir el estudio a la evaluación del comportamiento bioadhesivo entre estas dos moléculas polimorfas α y β diferenciadas por un carbono anomérico.

Ambos quitosanos son productos comerciales fabricados por la empresa **Glentham Life Sciences** en el Reino Unido.

Quitosano α grado comercial y alimenticio ($C_6H_{11}NO_4$)_n CAS: 9012-76-4

Chitosan GP7325 – bajo peso molecular - Reino Unido N.- Lote: 070PMP

Origen:	Camarón rosado
Apariencia:	Polvo fino color blanco
Grado desacetilación (GDA):	93.09%
Grado acetilación (DA):	6.91 %
Peso molecular promedio:	890 kDa (Ecuación Mark Houwink)
Humedad (%):	2.74 %
Tamaño de partícula:	\leq 149 micras
Fecha de fabricación:	25/05/2018
Fecha de vencimiento:	06/07/2025
Concentración de grupos NH_3^+ presentes en la solución al 2% p/v*:	85.51%

Certificado de calidad y resultados de titulación potenciométrica*, se anexan en el Apéndice.

Quitosano β grado comercial y alimenticio (C₆H₁₁NO₄)_n CAS: 9012-76-4

Producto: **Chitosan GE4907 – bajo peso molecular - Reino Unido N.- Lote: 727QLB**

Origen: Plumas de calamar
Apariencia: Polvo fino color blanco a ligeramente Marrón
Grado desacetilación (GDA): 93.77 %
Grado Acetilación (DA): 6.23%
Peso Molecular promedio: 795.13 kDa (Ecuación Mark Houwink)
Humedad (%): 3.75%
Tamaño de Partícula: <=149 micras
Fecha de Fabricación: 27/04/2017
Fecha de Vencimiento: 04/05/2024
Concentración de grupos NH₃⁺ presentes en la solución al 2% p/v*: 85.51%

Certificado de calidad y resultados de titulación potenciométrica*, se anexan en el Apéndice.

Descripción del soporte de celulosa:

Papel de celulosa -grado industrial:

Compuesto únicamente por fibras largas de celulosa pura, previamente blanqueadas. Obtenidas a partir de virutas kraft. No contiene saturante, colorantes o aditivos.

Procedencia: Empresa Neenah Gessner GmbH – Alemania

ECF pulpa blanqueada /NBSK pulpa Kraft fibras blandas

Gramaje del papel: (70) g/m²

Brillo, ISO: +89 %

% Cenizas: 0.2 %

Especies de origen:

68% Pino Lodgepole

32% Píceas Scandinavia

IR-TF y Certificado de calidad, se anexan en el Apéndice.

Descripción de reactivos químicos: puros o en soluciones concentradas:

1. Ácido acético (CH₃COOH) glacial, anhidro para análisis.

Marca EMSURE ® Merck. N.- artículo: 1.00063.1000

Densidad. 1.0401g/mL (25°C)

Concentración: >99.8%

2. Agua destilada – origen: Laboratorio Kuresa S.A / Perú

3. Solución de NaOH al 10% p/v. Marca EMSURE ® Merck.
N.- artículo: 1.05588.9010. Se prepararon 100mL a la concentración de 0.1 % v/v.
- 4.- Solución de NaOH al 50% p/v. Fabricante Aquaquimi Perú.
- 5.- Polivinilpirrolidona (PVP), anhidro. Marca Luviskol® K30 powder -BASF
Concentración: >95%
Peso molecular (método GPC): 40000 – 50000 Da
6. Glutaraldehído (C₅H₈O₂) al 10.50% v/v
Marca Aquacide, fabricado por Laboratorio Roker del Perú.
PM: 100.11 g/mol
7. Almidón refinado de maíz grado industrial – Fabricante Ingredion Perú, S.A. Marca ALMIDEX®
Apariencia: Polvo blanco
% Humedad: máx. 13%
pH (sol.20%): 4.5 - 7.0
Viscosidad Brookfield (60°C): Min. 700 cP

III. 2 Equipos de laboratorio

1. pH metro marca OHAUS – dotado de electrodo de vidrio modelo ST350.
2. Balanza analítica marca OHAUS – Peso máximo 200g
3. Analizador termogravimétrico OHAUS – Modelo MB120 – 120 g
4. Espectrofotómetro IR-TF. Equipo Bruker – Equipado con accesorio ATR – Cristal de seleniuro de zinc (ZnSe). Rango de barrido: 400 – 4000cm⁻¹. Resolución 4cm⁻¹. Universidad Católica del Perú – Laboratorio CITE Materiales.
5. Viscosímetro analógico - marca Brookfield – Modelo LVT y juego de husillos o agujas de medición.
6. Microscopio óptico 1000X HiView con software para medir ángulo de contacto.
7. Microscopio óptico marca Amscope con cámara digital de 5MP
8. Barra Mayer marca Biuged Laboratory Instruments - Número 10, medidas: ancho de recubrimiento: 30cm - largo total: 40 cm.

9. Equipo de tracción y compresión con celda de carga de 200 N – Marca ChemInstruments. Mínima velocidad de trabajo: 3cm/min. – Configurado con el método de resistencia al pelado en conformación T para determinar fuerza de adhesión en unidades de gf/cm (gramos fuerza /centímetro).
10. Horno de secado convencional, marca Memmert – Rango: 25-200°C
11. Incubadora digital marca BOECO – modelo IB-9025A - Rango: 25-65°C
12. Medidor de espesor electrónico, marca ChemInstruments – Modelo Micrometer
13. Cámara de secado UV – marca BASF – Equipada con 9 lámparas fluorescentes UVC marca Philips- Modelo TUV 30. Potencia total de la cámara UV: 270W, equivalente a una intensidad de irradiación de 0.094 W/cm² programada a una longitud de onda de 254nm.
14. Agitador mecánico digital, marca Caframo. Modelo BDC1850. Rango de mezclado 12 – 1800 rpm.
Nota: Los instrumentos y equipos de Laboratorio, pertenecen a la planta de la empresa Kuresa S.A ubicada en Lima– Perú.
15. Equipo de Microscopía de Fuerza Atómica (MFA) – Modo de contacto intermitente. Laboratorio de Espectroscopia Laser, UCV – Venezuela.

Características de la punta empleada:

Modelo de la punta	Tipo de punta	Constante de Fuerza (N/m)	Frecuencia (KHz)	Material	Ángulo lateral (°)	Radio (nm)	Set point (V)
MSNL - 10	A (triangular)	0.07	22	Punta de silicio en un brazo de nitruro de silicio	22.5	2	2.1 – 2.3

- 16.- Equipo de difracción de rayos X (DRX), marca Malvern PANalytical – Modelo Empyrean Alpha 1. Dotado de una fuente ánodo de cobre como tubo emisor de RX.
- 17.- Titulador potenciométrico – marca Hanna Instruments – Modelo HI5521 dotado con electrodo combinado de pH modelo HI1131B.

III. 3 Métodos experimentales:

A continuación, se describen los métodos experimentales generales, que han sido aplicados en el desarrollo de cada uno de los objetivos planteados.

Preparación de soluciones:

La preparación de soluciones de los quitosanos α y β puros empleando una solución de ácido acético al 1% v/v, se realizó bajo el siguiente procedimiento:

1.-En primer lugar, se prepararon 2 L de una solución diluida de ácido acético a una concentración de 1% v/v, midiendo 20mL del reactivo grado glacial >99.8% y aforando a un volumen final de 2L con agua destilada.

2.-Para preparar 500 mL de solución acuosa de cada quitosano al 1% p/v, se pesaron 5g de cada sólido y se disolvieron en 200 mL de la solución ácida al 1% v/v. Finalmente se transfirió el contenido a un matraz aforado, para completar al volumen final.

3.- Para preparar 500 mL de solución acuosa de cada quitosano al 2% p/v, se pesaron 10g de cada sólido y se disolvieron en 400mL de la solución ácida al 1% v/v. Finalmente se transfirió el contenido a un matraz aforado para completar al volumen final.

4.- Para preparar 250mL de las soluciones de quitosanos al 2.5% p/v se pesaron 6.25g de cada uno de los sólidos y se disolvieron en 200 mL de la solución ácida al 1% v/v. Finalmente se transfirió el contenido a un matraz aforado para completar al volumen final.

Cada mezcla se agitó en un baño termostático a 30°C, garantizando la completa disolución del quitosano en aproximadamente 15 – 30 min empleando baja velocidad de mezclado mecánico (60 rpm). Dado que se trata de quitosanos de bajo peso molecular, se logra la disolución en un período de tiempo corto. El quitosano α requirió un tiempo de mezclado entre 25 -30 min por presentar mayor peso molecular y por ende mas tendencia a coagulación durante la disolución.

Todas las soluciones preparadas, presentan un aspecto transparente y una coloración ligeramente amarilla. La fluidez de cada solución, varió de acuerdo a la concentración y la viscosidad de las soluciones de los quitosanos α y β . Las Figura 32 a y b presentan el aspecto final de estas preparaciones.

5.- Para preparar 100mL de una solución al 10% p/v de polivinilpirrolidona, se pesaron 10g del sólido y se disolvieron en 70 mL de agua destilada. Se agitó por 20 min en el baño termostático a 45°C hasta obtener una solución transparente

homogénea, de color amarillo. Posteriormente se transfirió el contenido a un matraz aforado para completar al volumen final.

6.- La preparación de la solución de glutaraldehído al 1.05% v/v, partió del reactivo al 10.5 % v/v. Se midieron 20mL del reactivo y se completó a un volumen final de 200mL con agua destilada en un matraz aforado.

7.- La solución de NaOH al 40% v/v se preparó a partir de la base concentrada al 50%, para lo cual se midieron 800mL y se completó a volumen final de 1000 mL con agua destilada en un matraz aforado.

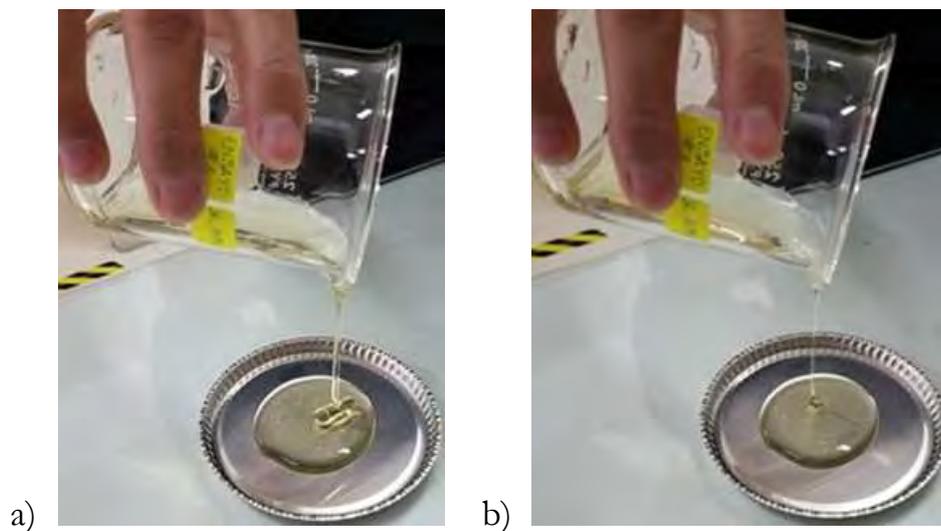


Figura 32. Aspecto físico (color y fluidez) de las soluciones al 2% p/v: a) Quitosano α , b) Quitosano β .

Determinación de la concentración de las soluciones de quitosanos:

1.- La concentración real de las soluciones de quitosanos α y β , se determinó experimentalmente a través de la medición del porcentaje de materia sólida. Se empleó un analizador termogravimétrico marca Ohaus, el cual fue programado a una temperatura fija de 105°C en modo de parada automática. En la Figura 33 se puede observar el equipo utilizado el cual emplea una lámpara halógena como fuente de calentamiento.

2.- Partiendo del peso inicial de la muestra de aproximadamente 1g, el equipo realiza un calentamiento progresivo sobre la muestra, empleando una lámpara halógena hasta alcanzar y estabilizar la temperatura de 105°C. La humedad presente es evaporada hasta peso constante, reportándose finalmente la concentración de la solución como porcentaje de materia seca.

3.- Se aplicó el mismo método a la solución de ácido acético diluido al 1% v/v que fue empleado en la preparación de las muestras, encontrándose que no hay un aporte como materia seca, debido a que éste se volatiliza durante el ensayo a 105°C. El ácido acético en solución tiene una presión de vapor muy elevada, si se compara con la del agua a la temperatura de 100°C. Se reporta un valor de 555kPa o 4162 mmHg para el ácido acético con respecto a 760 mmHg para el agua, por lo cual se confirma que se trata de un ácido volátil y de bajo punto de ebullición.



Figura 33. Fotografía referencial del analizador termogravimétrico.

Determinación del pH y viscosidad de las soluciones de quitosanos:

1.- El pH final fue determinado empleando un pHmetro electrónico Ohaus previamente calibrado, el cual está dotado de un electrodo de vidrio, tal como se observa en la Figura 34.

Las soluciones preparadas al 1% p/v de ambos quitosanos, fueron ajustadas a un pH cercano a 4.0, añadiendo entre 1 - 3 gotas de solución de NaOH al 0.1% v/v. Esto se realizó con la finalidad de considerar el pH como un parámetro fijo inicial en el estudio de la estabilidad realizado durante 7 semanas. De igual manera se realizó este ajuste en las soluciones al 2% p/v empleadas en la reacción de base de Schiff con glutaraldehído, de manera de asegurar la presencia de grupos aminos NH_2 reactivos, los cuales fueron cuantificados a través de la titulación potenciométrica.

Por su parte, las soluciones de quitosanos al 2.5% p/v preparadas para realizar las reacciones de funcionalización con PVP, no requirieron ajuste del pH inicial, dado a que las mezclas preparadas ya arrojaron valores cercanos o superiores a 4.0.



Figura 34. Determinación del valor de pH de las soluciones preparadas.

2.- La viscosidad dinámica rotacional se determinó a 25°C y por triplicado, a cada solución de quitosano α y β , puros y funcionalizados, empleando el viscosímetro Brookfield analógico modelo LVT que se observa en la Figura 35. Se reporta el valor promedio considerando que la precisión del método es del 1%.



Figura 35. Determinación de la viscosidad de las soluciones preparadas

Método de recubrimiento empleando barra Mayer:

Norma internacional de referencia: ASTM D4147-99

Bajo esta metodología se busca aplicar una película uniforme del bioadhesivo sobre el soporte de celulosa, empleando un instrumento calibrado. Para ello, se ejerce una presión uniforme a una velocidad controlada a lo largo de toda la longitud del soporte. El espesor del recubrimiento húmedo, así como de la película seca obtenida, son dependientes de la graduación de la barra Mayer seleccionada.

Estas barras de recubrimiento fueron creadas por Charles Mayer en 1920 y se comercializan en diferentes calibres desde el número 3 al 75. La variación entre ellas se basa en el diámetro del alambre que las recubre, además, tienen una forma específica y un peso estandar. En la Figura 36 a y b, se puede observar el detalle de una barra Mayer y un conjunto de diferentes medidas y calibres.

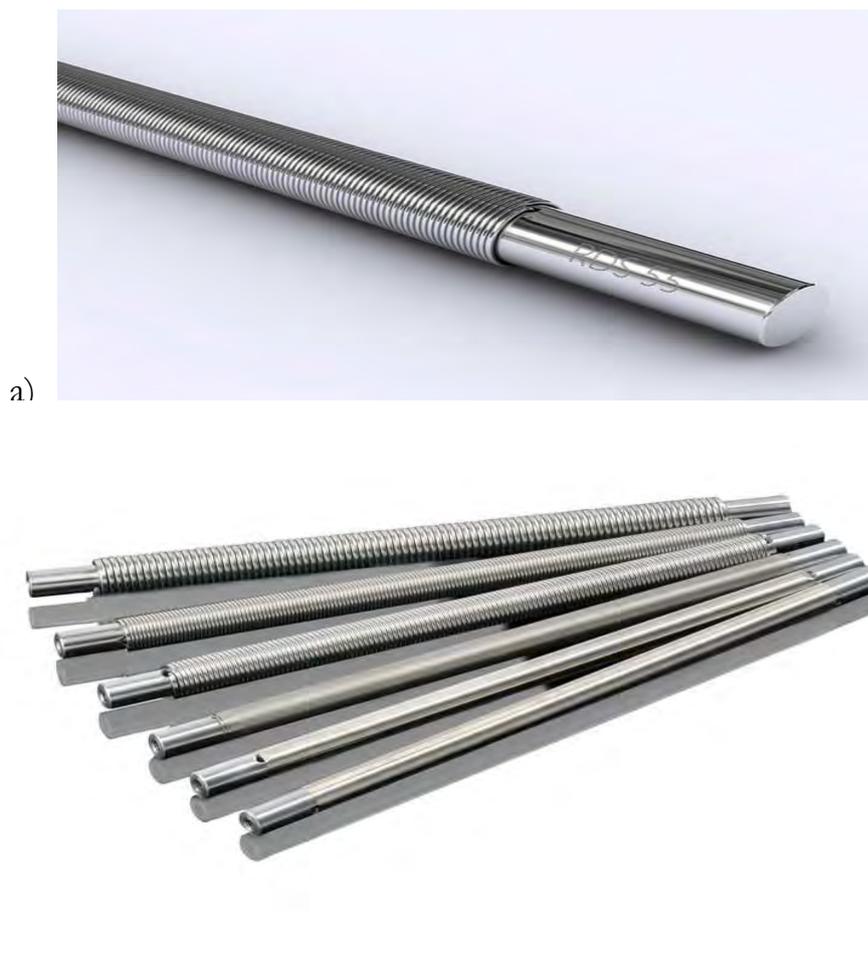


Figura 36. Barras Mayer: a) Detalle de su forma y bobinado de alambre, b) conjunto de barras con alambres de diferentes calibres.

1.- Se preparó un soporte de celulosa de 15 cm de ancho x 29.7 cm largo para realizar el revestimiento de los bioadhesivos de quitosanos y sus derivados.

2.- Para cada preparación, se colocó una cantidad suficiente de la solución del bioadhesivo, sobre la zona superior del soporte, considerando un margen de 5.6cm de papel sin revestimiento.

Las dimensiones del soporte y la orientación del revestimiento, se describen esquemáticamente en la Figura 37.

3.- Empleando la barra Mayer número 10 de 35 cm de longitud x 30cm de alambre, se realizó el revestimiento de las películas de los adhesivos puros y funcionalizados, ejerciendo una presión firme y constante en todo el recorrido, tal y como se muestra en la Figura 38.

4.- Las Figuras 39 a y b representan un ejemplo de las películas húmedas y secas del adhesivo recubierto sobre el soporte de celulosa.

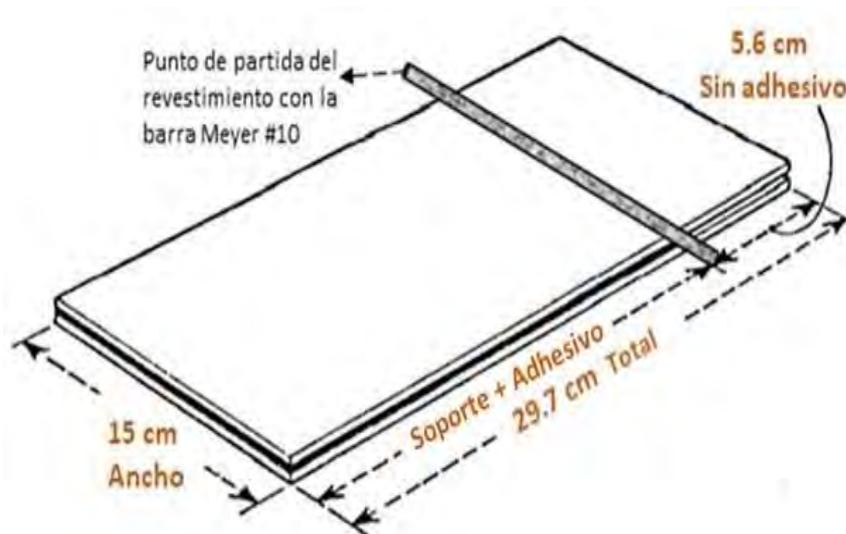


Figura 37. Descripción de las dimensiones del soporte de celulosa recubierto con bioadhesivo.



Figura 38. Técnica de recubrimiento sobre el soporte de celulosa, empleando la barra Mayer 10.



a)



b)

Figura 39. Película de bioadhesivo recubierta sobre el soporte de celulosa.

a) Aspecto de la película húmeda, b) aspecto de la película seca

5.- Se procedió a laminar por duplicado cada uno de los soportes húmedos, colocando una hoja de alfa celulosa de la misma longitud, para formar un cuerpo tipo sándwich.

6.- Seguidamente se realizó el secado de las muestras empleando el horno convencional durante 1 min a 65°C o bajo cámara de luz UV, de acuerdo a lo establecido para cada ensayo experimental.

7.- Empleando un micrómetro automático, se evaluaron por duplicado los espesores totales de las muestras laminadas de ambos quitosanos puros para confirmar la uniformidad del espesor de la capa de adhesivo seco sobre el soporte. La barra Mayer 10, aplica un volumen fijo de adhesivo sobre el soporte.

La Figura 40 muestra el micrómetro electrónico marca Cheminstruments que ha sido empleado. Se reporta el promedio de las evaluaciones por duplicado, expresado en milímetros (mm) y con una precisión de 0.001 mm.



Figura 40. Micrómetro electrónico empleado en la determinación del espesor total del cuerpo de prueba tipo sándwich.

Método de medición de la fuerza de adhesión. Resistencia al pelado en conformación T:

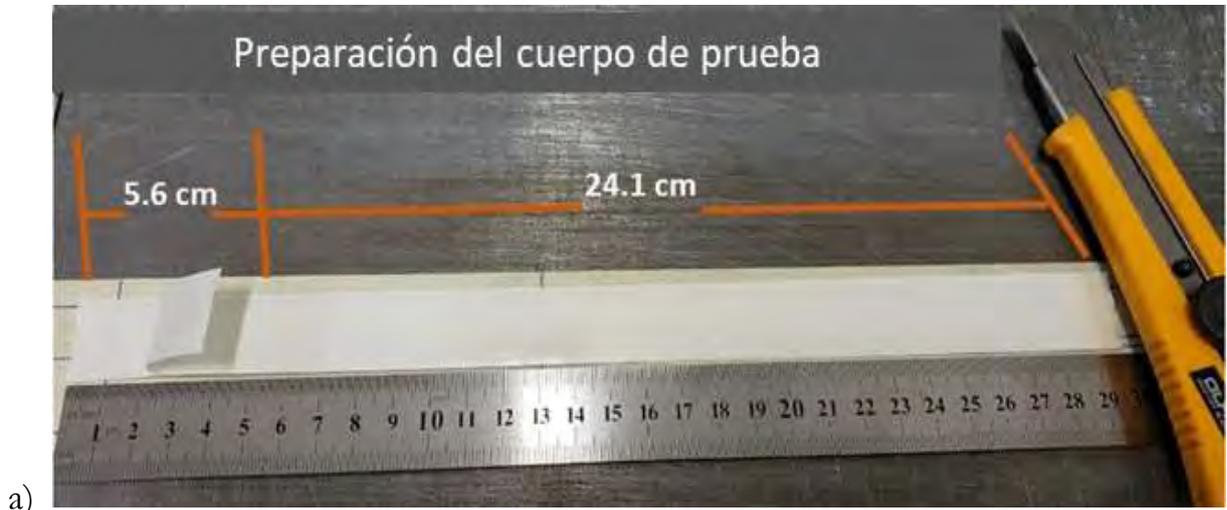
Norma internacional de referencia: ASTM D1876-2001

A través de este método, se evalúa la fuerza requerida para separar progresivamente dos soportes flexibles que se mantienen unidos por un adhesivo.

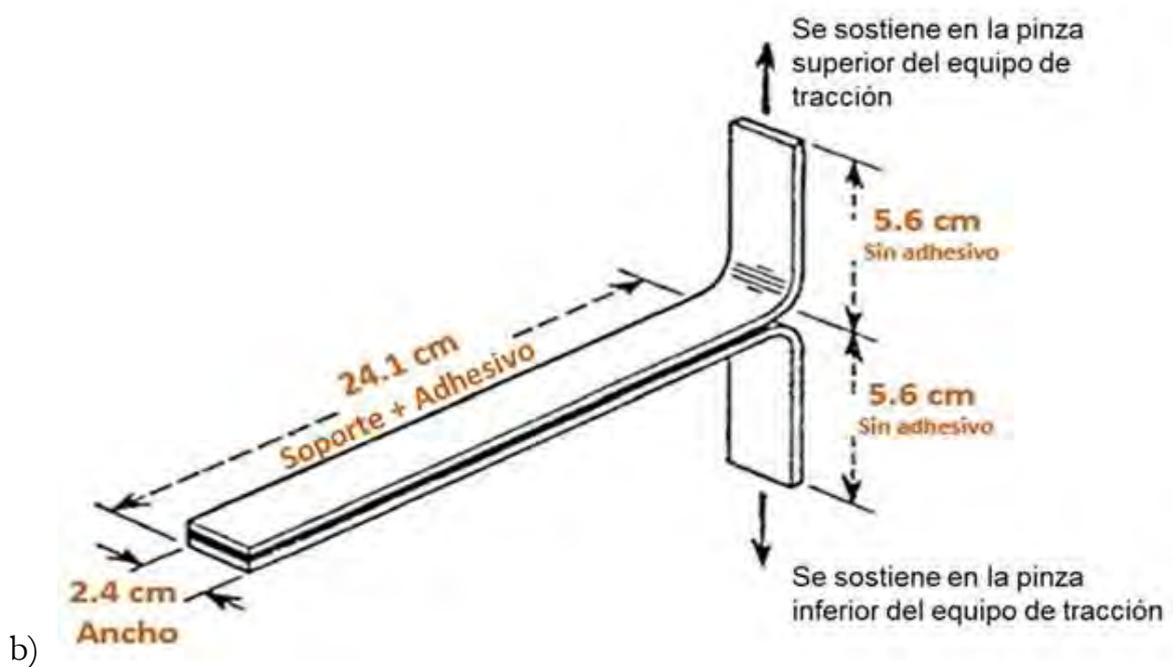
La adhesión bajo el método de pelado, se representa como la cuantificación de la energía total liberada durante la ruptura de las fuerzas internas que unen al adhesivo con el soporte, a través de la aplicación de un esfuerzo de corte mecánico.

La preparación de la muestra, el proceso de secado o curado del adhesivo y el espesor de la capa de adhesivo, son parámetros relevantes para lograr la reproducibilidad de los resultados.

1.- A partir de los soportes laminados tipo sándwich, revestidos y secos, se prepararon los cuerpos de prueba, considerando los detalles experimentales representados en las Figuras 41 a y b.



a)



b)

Figura 41. Preparación de los cuerpos de prueba:

a) Dimensiones de la muestra, b) esquema general de la muestra en conformación T.

2.- Para la ejecución del método con el equipo de tracción, se consideró una velocidad de ascenso vertical de máquina de 3 cm/min.

3.- El cuerpo de prueba se instaló en el equipo de tracción, empleando dos pinzas sujetadoras, y seguidamente se inició el recorrido de forma ascendente, utilizando una celda de carga de 200N. Las Figuras 42, a, b, c, describen el desarrollo de la metodología.

4.- Según el método ASTM 1876-2001, se considera como fuerza de adhesión al valor detectado por unidad de ancho durante el desplazamiento ascendente del cuerpo de prueba.

5.- El software EZ Lab. del equipo de tracción Cheminstruments, emite un reporte individual por cada cuerpo de prueba evaluado, el cual contiene los resultados de los valores de fuerzas de adhesión máxima, mínima y promedio. Adicionalmente, se expresa el trabajo de adhesión y los parámetros estadísticos como la desviación estándar y la varianza. Cada uno de los reportes individuales, contiene 470 mediciones de las fuerzas de adhesión detectadas a lo largo del recorrido de 7.5 cm de longitud de la muestra.

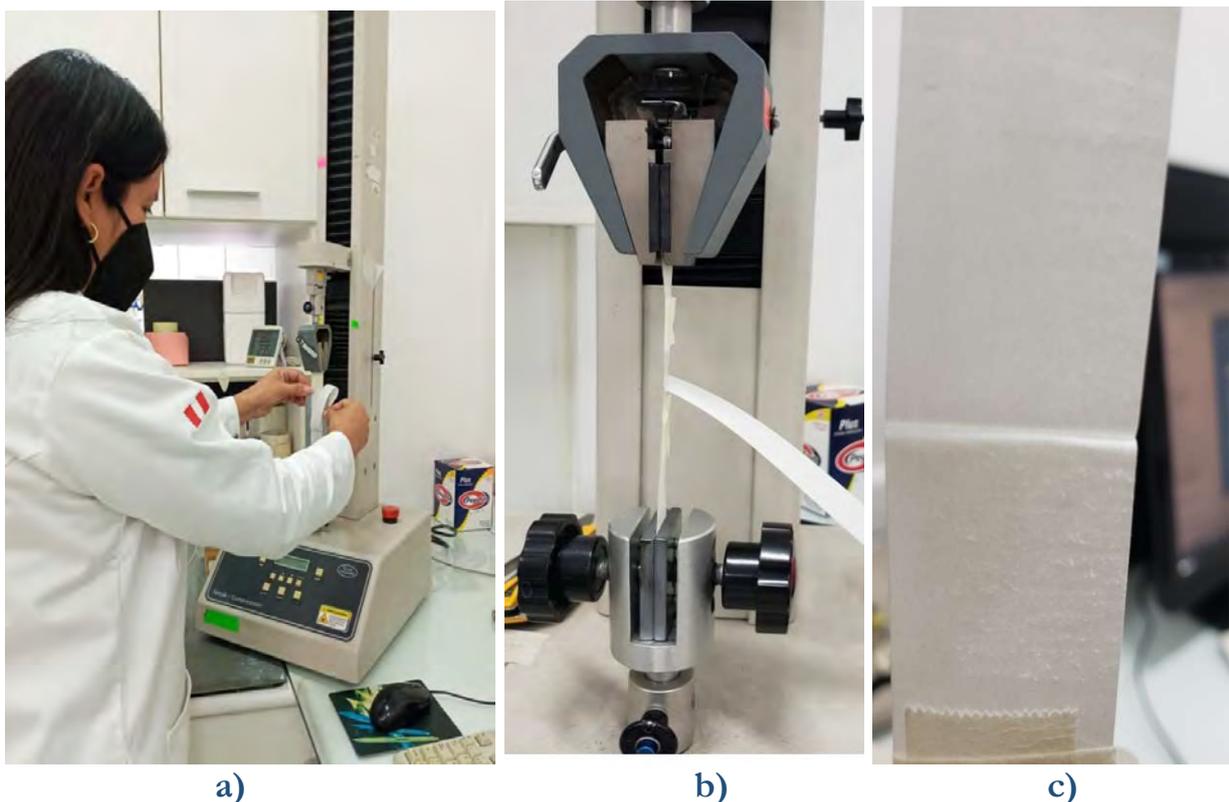


Figura 42. Desarrollo del método de resistencia al pelado en conformación T en equipo de tracción. a) Ajuste del cuerpo de prueba en las pinzas sujetadoras, b) montaje final en conformación T, c) proceso de pelado ascendente con ruptura de la unión adhesiva y medición de la fuerza de adhesión.

6.- Para el estudio de los resultados finales de cada muestra de quitosano puro y funcionalizados, se partió de los datos obtenidos en los reportes del equipo de tracción y se aplicó un análisis estadístico de datos empleando el Software R. El ensayo seleccionado es conocido como Dickey-Fuller aumentado (DFA), el cual es comúnmente utilizado para determinar la estacionariedad de una serie de datos. Se estableció como criterio de aceptación estadístico que cuando el valor p del ensayo sea menor o igual a 0.05, se rechaza la hipótesis nula (no estacionaria) y se concluye que la serie de datos es estacionaria, en cuyo caso, la media y la varianza se consideran constantes.

7.- Por cada muestra se seleccionaron 4 cuerpos de prueba, de al menos 10 evaluados en máquina, cuyas series de datos fueron analizadas bajo el mismo criterio estadístico, considerando en el reporte final, el valor promedio y tres veces la desviación estándar, incluyendo así un 99.7% de los datos.

Método de medición del ángulo de contacto:

Norma internacional de referencia: ASTM D724-99

El ángulo de contacto de un líquido, dosificado sobre una superficie sólida, indica rápidamente el grado de adherencia superficial entre el sólido y la gota de líquido. Mediante esta norma se puede medir el grado de humectabilidad, capturando la imagen de una gota líquida asentada sobre un soporte de papel y haciendo posteriormente su análisis a través de un software.

1.- Se prepararon muestras de soportes de celulosa recubiertos con quitosanos α y β , de 25mm ancho x 300 mm de largo, los cuales no fueron laminados. El secado se realizó a temperatura ambiente (25°C) y humedad relativa de 55%, dentro de un horno convencional de laboratorio por 72 horas.

2.- Sobre cada una de las muestras, se colocó una gota de agua destilada de 6 μ L empleando una micropipeta graduada. Seguidamente se realizó la medición del ángulo luego de 5 segundos de contacto de la gota con el soporte celulósico.

Se tomaron un total de 5 mediciones del ángulo de contacto por cada muestra, considerando una separación de 2.5cm entre cada evaluación.

Los resultados fueron tabulados y registrados fotográficamente empleando el software HiView del microscopio. Para los cálculos, se consideraron las dos tangentes de la línea base y se midieron los ángulos internos, descartando la medición en caso de diferir significativamente. Los resultados de las 05 mediciones realizadas por muestra,

se presentan en el Apéndice. La Figura 43 presenta el montaje realizado y la fotografía real de una muestra evaluada.

3.- Las variaciones en el ángulo de contacto, fueron determinadas al comparar los resultados obtenidos para el soporte de celulosa recubierto con quitosanos α y β , secados en horno convencional con respecto a los soportes fotoirradiados en la cámara de luz UV a diferentes tiempos de exposición, los cuales no fueron laminados.

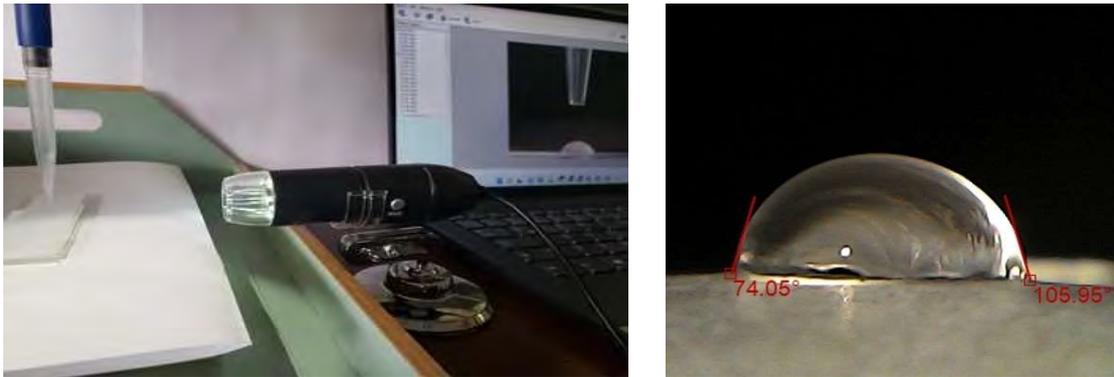


Figura 43. a) Montaje experimental, b) medición del ángulo de contacto a través del software del microscopio HiView.

Caracterización fisicoquímica de los quitosanos α y β :

Estudio de la estabilidad del pH y la viscosidad de las soluciones ácidas de los quitosanos α y β .

1. Los 500mL de cada solución de quitosanos α y β preparados al 1% p/v, fueron vertidos en 2 botellas color ámbar, y seguidamente fueron almacenadas en la incubadora BOECO por un período total de 7 semanas a 25°C.

2.- Cada semana se determinó el valor del pH y la viscosidad dinámica rotacional, a 25°C.

3.- La medición de viscosidad se realizó por triplicado y sus resultados promedios, fueron tabulados y representados gráficamente. El error o precisión del método de viscosidad brookfield es del 1%.

Determinación del grado de desacetilación de los quitosanos α y β bajo la técnica IR-TF:

Los experimentos fueron realizados en el Laboratorio CITE Materiales de la Universidad Católica del Perú, empleando el equipo infrarrojo marca Bruker equipado con un accesorio platinum ATR.

1. Las características polimórficas de las moléculas puras de los quitosanos α y β fueron estudiadas directamente en estado sólido, empleando espectroscopía infrarroja con transformadas de Fourier IR-TF en un rango entre 4000cm^{-1} a 400cm^{-1} . Se adaptó un accesorio ATR (reflexión total atenuada) para sólidos, y se consideró una condición de operación de 32 scans y una resolución de 4cm^{-1} .

2.- La metodología empleada consiste en el cálculo del grado de desacetilación (GDA) de las moléculas de quitosanos α y β a través del estudio de señales específicas en el espectro de infrarrojo IR-TF.

3.- Se tomó como referencia el trabajo de Brugnerotto y colaboradores (2001)⁷⁰, así como Ramírez y colaboradores (2016)⁷¹, quienes consideraron una ecuación derivada de la recta obtenida de la relación entre la señal a 1420cm^{-1} y 1320cm^{-1} . Estas bandas son características del grupo N-H de la amida secundaria y las tensiones del grupo $-\text{CH}_3$, respectivamente. De su relación, deriva el cálculo matemático del GDA aplicado.

4.- A través del software OPUS Spectroscopy, versión 7.2 del equipo Bruker, se determinaron las áreas correspondientes de las señales mencionadas.

5.- Empleando las ecuaciones 8 y 9 se realizaron los cálculos para cuantificar el grado de desacetilación expresado como el porcentaje total de grupos aminos presentes en la molécula de quitosano. Inversamente, el GA representa la cantidad de grupos acetilos remanentes de la reacción de conversión de quitina a quitosano.

$$\text{GDA (\%)} = \{ [31.92 \times (A_{1320}/A_{1420})] - 12.20 \} \quad \text{Ecuación (8)}$$

$$\text{GA} = 100 - \text{GDA} \quad \text{Ecuación (9)}$$

Siendo **GA**: El grado de acetilación

GDA: grado de desacetilación.

Medición de la fuerza de adhesión bajo la técnica de Microscopía de Fuerza Atómica (MFA):

1.- Se emplearon soluciones de quitosanos α y β al 1% p/v en ácido acético 2M, las cuales presentaron un pH final de 3.0. Seguidamente, fueron esparcidas sobre una superficie de vidrio $1 \times 1\text{ cm}^2$ previamente lavada con EtOH y acetona. La superficie recubierta, fue colocada en un horno a 40°C por 4 horas para formar una película del biopolímero.

2.- Una vez a temperatura ambiente, se colocaron las películas secas sobre un soporte de acero de 1 cm de diámetro, para ser evaluarlas con el equipo MFA.

3.- Para evaluar la muestra del soporte de celulosa, se colocó un adhesivo de doble contacto entre la superficie de vidrio de 1x1 cm² y el soporte de acero.

4.- Una vez dentro del equipo MFA, representado en la Figura 44, se realizaron escaneos en 2 áreas de la muestra, generando 5 curvas de medición de fuerza de adhesión por área estudiada, en regiones de escaneo de 2 μm².

5.- Se realizaron varias tomas micrográficas a distintas alturas del sensor (expresado en μm²), para representar la topografía de las muestras a través del registro de los mapas morfológicos en 2D y rugosidades en 3D para cada superficie.

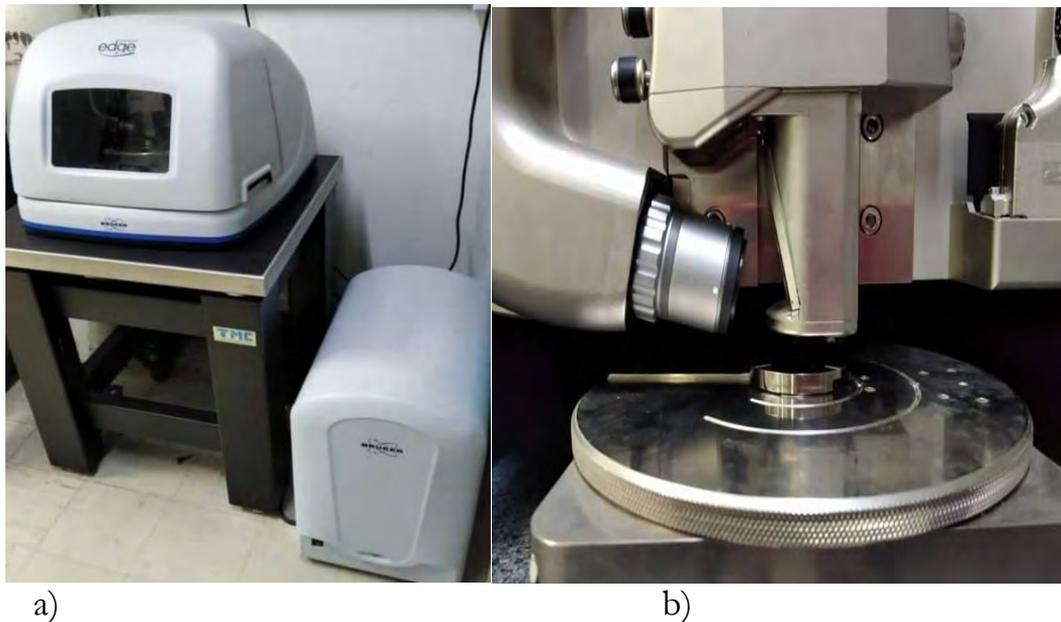


Figura 44. Microscopio de fuerza atómica Brucker– MFA / UCV: a) Imagen del equipo MFA, b) zoom del enfoque sobre la muestra.

Evaluación de las fases cristalina y amorfa del soporte de celulosa y los quitosanos α y β , bajo la técnica de difracción de rayos X (DRX).

Los quitosanos α y β en estado sólido y el soporte de alfa celulosa, fueron colocados en el portamuestras múltiple del equipo difractómetro RX Malvern-PANalytical. La fuente de radiación utilizada fue un tubo ánodo de cobre ($K\alpha = 1.5406 \text{ \AA}$) y el barrido de escaneo 2θ se realizó en un rango de 8-70° con un generador de 40 mA y 45kV.

1.- Se prepararon muestras de los quitosanos α y β en estado sólido y del soporte de alfa celulosa en los discos de acero del equipo Malvern Panalytical. Los mismos se ubicaron en tres posiciones del portamuestras, según se hace referencia en la Figura 45. No fue aplicada ninguna técnica de trituración que modificara el tamaño de partícula o estado físico original de las muestras.

2.- Aplicando un método estándar de difracción de RX durante un tiempo de 30 min sobre las tres muestras, fue posible el registro de los difractogramas de intensidad de reflexión con respecto a la medición del ángulo 2θ .



Figura 45. Difractómetro de rayos X Malvern Panalytical con fuente de cobre. a) Imagen del equipo DRX, b) detalle del portamuestras

Preparación del ensayo de funcionalización bajo fotorreacción UV tipo injerto: Preparación de las mezclas: quitosanos α y β con PVP

1.- Partiendo de las soluciones de quitosanos α y β al 2.5% p/v, así como de polivinilpirrolidona al 10% p/p, caracterizadas previamente de acuerdo a su concentración total, pH y viscosidad a 25°C, se prepararon 100mL de cada mezcla siguiendo las relaciones descritas en la Tabla 1.

2.- El criterio de preparación de las mezclas consideró una relación 1:1 entre las concentraciones finales de los quitosanos α , β y el PVP. Por lo cual, estos experimentos contemplaron fijar concentraciones del 1% y 2% p/v para todos los polímeros.

3.- Las dos mezclas preparadas con cada quitosano, se identificaron como: Mezcla 1: $Qt\alpha$ -PVP-1 y $Qt\beta$ -PVP-1 en las cuales la concentración total es del 2%p/v. Por su parte, la Mezcla 2 se refiere a: $Qt\alpha$ -PVP-2 y $Qt\beta$ -PVP-2, en las cuales la concentración total es del 4%p/v.

4.- Cada relación de mezcla fue preparada añadiendo primero el volumen correspondiente de la solución de quitosano e integrando lentamente el volumen de

la solución de PVP. Se empleó un agitador magnético para lograr una mezcla final homogénea.

5.- El mezclado se realizó a temperatura ambiente de 25°C por 20 minutos. Todas las mezclas se dejaron en reposo por 15 minutos antes de iniciar los ensayos de recubrimiento.

Tabla 1. Preparación de las mezclas de quitosanos α , β con PVP.

Muestra	Código de la muestra	Vol. PVP al 10% (mL)	Vol. de Quitosano al 2.5% (mL)	Vol. Agua destilada (mL)	Concentración final de Quitosano (%)	Concentración final de PVP (%)
	Qtα	-	80	20	2	-
Mezcla 1	Qtα-PVP-1	10	40	50	1	1
Mezcla 2	Qtα-PVP-2	20	80	-	2	2
	Qtβ	-	80	20	2	-
Mezcla 1	Qtβ-PVP-1	10	40	50	1	1
Mezcla 2	Qtβ-PVP-2	20	80	-	2	2
	PVP	20	-	80	-	2

Experimentos de fotoreacción UV tipo injerto:

1.- Los cuerpos de prueba previamente laminados, fueron irradiados dentro de la cámara UV marca BASF, a una intensidad de luz de 0.094 Watts/cm² durante diferentes períodos de tiempo. Los tiempos de irradiación evaluados fueron: 5min, 10min, 15min, 20 min y 25min.

2.- Al culminar el tiempo de exposición en la cámara UV, las muestras fueron colocadas dentro del desecador durante 20 min, para luego realizar las mediciones de fuerza de adhesión en un área a temperatura de 25°C y humedad relativa 50.5%.

Preparación de muestras para ensayos de funcionalización de los quitosanos α y β con glutaraldehído (Gt) bajo reacción tipo base de Schiff.

1.- A partir de las soluciones ácidas de quitosano α y β al 2% p/v y la solución de glutaraldehído al 1% v/v, se realizó la preparación de tres mezclas, siguiendo los detalles indicados en la Tabla 22.

2.- Se tomó como base de cálculo la relación p/p entre Gt/NH₂, considerando la cantidad real de grupos aminos presentes en la solución al 2%p/v. A partir del valor de la concentración de los grupos amonio en solución (la cual se determinó bajo titulación potenciométrica), se calculó la cantidad de grupos -NH₂ reactivos, por diferencia con el valor del GDA de cada quitosano.

Para el quitosano α , se consideró:

GDA(IR-TF)= 93.14% (cantidad total de grupos -NH₂ presentes en la molécula de quitosano).

%NH₃⁺ reportado vía titulación potenciométrica = 85.51%, y considerando el GDA, el %NH₃⁺= 79.64%, lo cual corresponde a la cantidad real de grupos protonados presentes en la solución al 2% p/v.

%NH₂= 13.49% (se calcula por diferencia)

Por lo tanto, para 100mL de solución al 2% p/v, están presentes:

1.8628g totales de grupos -NH₂, de los cuales 0.2513g corresponden a grupos -NH₂ reactivos.

Para el quitosano β :

GDA(IR-TF)= 93.77% (cantidad total de grupos -NH₂ presentes en la molécula de quitosano).

%NH₃⁺ reportado vía titulación potenciométrica = 85.51%, y considerando el GDA, el %NH₃⁺= 80.18%, lo cual corresponde a la cantidad real de grupos protonados presentes en la solución al 2% p/v.

%NH₂= 13.59% (se calcula por diferencia)

Por lo tanto, para 100mL de solución al 2% p/v, están presentes:

1.8754g totales de grupos -NH₂, de los cuales 0.2549g corresponden a grupos -NH₂ reactivos.

3.- Para la preparación de las mezclas, se tomaron 100mL de solución de cada quitosano al 2% p/v y se añadió el equivalente de solución de Gt al 1% v/v, mezclando durante 10 min a 25°C con un agitador magnético, hasta observar completa integración. El resumen de mezclas preparadas, se presenta en la Tabla 2.

4.- Transcurrida 1h de la preparación, se procedió con la caracterización de las mezclas, y al procedimiento de recubrimiento sobre el soporte de celulosa empleando el método de barra Mayer 10.

5.- Los cuerpos de prueba se secaron en horno convencional Memmert por un tiempo de 1 min a una temperatura de 65°C para posteriormente evaluar la fuerza de adhesión bajo el método de resistencia al pelado en T, ya descrito.

Tabla 2. Relación de mezclas de quitosanos α y β con glutaraldehído al 1% v/v.

Código de la muestra	Volumen de sol. quitosano al 2% p/v (mL)	Cantidad de grupos -NH ₂ presentes (g)*	Volumen añadido de sol. glutaraldehído al 1% v/v (mL)	Masa de Gt presente (g)**	Relación (p/p) Gt/NH ₂ reactivos
Qt α -2	100	-NH ₂ totales: 1.86 -NH ₂ reactivos: 0.25g	0	0	0
Qt α -Gt-1			2	0.02	0.08
Qt α -Gt-2			4	0.04	0.16
Qt α -Gt-3			6	0.06	0.24
Qt β -2	100	-NH ₂ totales: 1.88 -NH ₂ reactivos: 0.25g	0	0	0
Qt β -Gt-1			2	0.02	0.08
Qt β -Gt-2			4	0.04	0.16
Qt β -Gt-3			6	0.06	0.24

*. Se calculó considerando GDA real de los quitosanos α y β , y del % de grupos -NH₂ reactivos en solución.

** Calculado a partir de la densidad de la solución Gt 1% v/v = 1.0145 g/mL

Preparación del adhesivo natural a base de almidón:

La fórmula preparada corresponde a un adhesivo empleado en el sector de fabricación de láminas de cartones corrugados, la cual fue suministrada por la empresa Cartonera Papelera Alfa del Perú. La misma es conocida como una fórmula estándar tipo Stein Hall, empleada en procesos tradicionales de corrugación industrial, que puede ser adaptada de acuerdo al tipo de almidón empleado y a las condiciones operacionales de cada fabricante.

El procedimiento experimental realizado, considera la preparación de dos fases tomando como base el almidón de maíz. Estas se conocen como: fase de gelatinización la cual se emplea como un vehículo para controlar la viscosidad final del adhesivo, y una fase de suspensión en la cual produce un almidón con alta pegajosidad.

Ambas representan 100 g totales de adhesivo:

Preparación de la “Fase de gelatinización”:

1.- Se añadieron las siguientes materias primas en un vaso de vidrio provisto de un agitador y plancha de calentamiento:

Para preparar 26g de esta fase, se pesaron:

Agua destilada: 12 g
Almidón (Almidex®): 3.5 g
Hidróxido de sodio (sol. al 40% p/v): 2 g

2.- Se inició la agitación a temperatura de 71°C por 15 minutos promoviendo la ruptura de los gránulos del almidón y provocando un proceso de absorción de agua. El aumento de volumen que se observa, se conoce como el proceso de gelatinización o hinchamiento del almidón de maíz.

3.- Transcurrido este tiempo, se añadieron 8.5g de agua destilada para disminuir la temperatura, favorecer la gelificación de la pasta formada y controlar la viscosidad de esta fase.

Preparación de la “Fase en suspensión”:

1.- Para preparar 74g de esta fase, se pesaron:

Agua destilada: 56.5 g
Tetraborato de sodio decahidratado: 0.54 g
Se agitó por 3 minutos y luego se adicionó:
Almidón (Almidex®): 17g

2.- Esta preparación se calentó igualmente a 71°C y bajo agitación se le añadió la fase de gelatinización.

3.- La preparación final se agitó por 5 min más y seguidamente se aplicó sobre el papel de alfa celulosa en caliente, empleando el método de revestimiento con barra Mayer 10, anteriormente descrito.

4.- Adicionalmente, se realizaron los experimentos de determinación de la fuerza de adhesión bajo el método de resistencia al pelado en conformación T.

5.- Finalmente, el adhesivo se caracterizó evaluando propiedades de pH, viscosidad brookfield y concentración como porcentaje de materia sólida.

CAPITULO IV. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Caracterización fisicoquímica y determinación del grado de desacetilación de los quitosanos α y β

Resultados de la evaluación de la estabilidad del pH y viscosidad durante 7 semanas:

Las soluciones de los quitosanos α y β han sido preparadas al 1% p/v en ácido acético diluido, el cual es un ácido débil con un valor de pKa de 4.74, por lo que presenta una baja concentración de iones acetato $-\text{CH}_3\text{COO}^-$ en equilibrio con el ácido. Este hecho permite la completa solubilización de la sal de acetato de quitosano formada y por otra parte, no se ve favorecida la hidrólisis sobre la molécula de quitosano. La Figura 46 presenta la reacción de equilibrio de este ácido y su valor de constante de acidez. Se obtuvieron soluciones completamente líquidas, transparentes y homogéneas para ambos quitosanos.

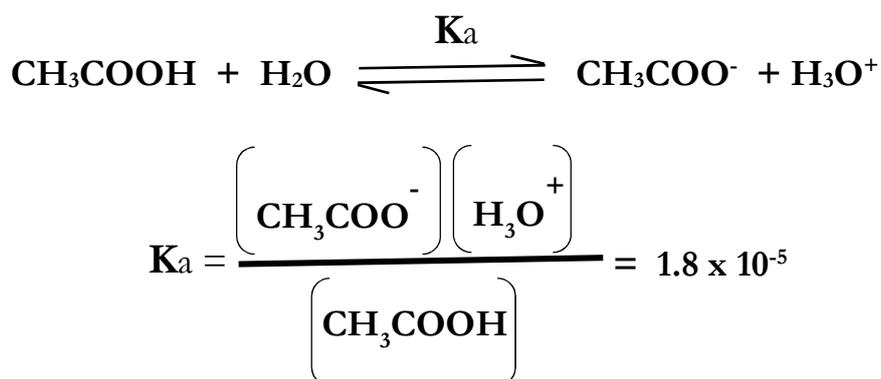


Figura 46. Disociación del ácido acético en medio acuoso.

Los resultados de la Tabla 3 muestran los valores de pH inicial y luego del ajuste con la solución de NaOH al 1% v/v, aproximadamente a 4.0, lo cual se ha considerado como el punto de partida para el estudio de estabilidad de este parámetro.

Tabla 3. Caracterización de las soluciones acuosas de quitosano α y β al 1% p/v, antes del almacenamiento a 25°C por 7 semanas.

Muestra	Aspecto	pH inicial	pH ajustado	Viscosidad (cP) **	Concentración (%) *
Quitosano α Lote: 070PMP	Líquido fluido y transparente con ligera coloración amarilla	3.78	3.94	168	1.02
Quitosano β Lote: 727QLB	Líquido fluido y transparente con ligera coloración amarilla	3.84	4.05	155	1.01

Aspecto (25°C, 50.5% humedad relativa), pH ajustado con solución de NaOH al 0.1% v/v (25°C)

*. La concentración se determinó bajo el método de materia sólida por termobalanza Ohaus, 105°C, 1g, secado automático. ** Viscosidad Brookfield LVT – aguja 2, 30 rpm, 25°C

Durante 7 semanas se determinó el valor del pH de ambas soluciones de los quitosanos α y β . Al finalizar el estudio, se evidenció que no hubo un cambio significativo de los valores iniciales previamente ajustados. Estos resultados demuestran que la sal de acetato de quitosano se mantiene soluble y prácticamente invariable en la solución ácida preparada. Adicionalmente, este hecho se relaciona con el equilibrio que existe entre el ácido acético y el ión acetato, el cual se comporta como un sistema tampón o regulador del pH del medio.

La Tabla 4 presenta los valores de pH de cada solución evaluados cada semana a temperatura de 25°C. Adicionalmente, la Figura 47 representa gráficamente los resultados obtenidos en el período de tiempo mencionado.

Tabla 4. Evaluación de la estabilidad del pH de las soluciones de quitosano al 1% p/v durante 7 semanas a 25°C.

Muestra	Medición del pH (25°C, medido a las soluciones al 1% p/v en solución de ácido acético). Tiempo "S" = semanas							
	(t=0)	t=1S	t=2S	t=3S	t=4S	t=5S	t=6S	t=7S
Quitosano α Lote: 070PMP	3.94	3.95	3.97	3.97	4.00	4.01	4.03	4.04
Quitosano β Lote: 727QLB	4.05	4.05	4.07	4.07	4.09	4.10	4.10	4.10

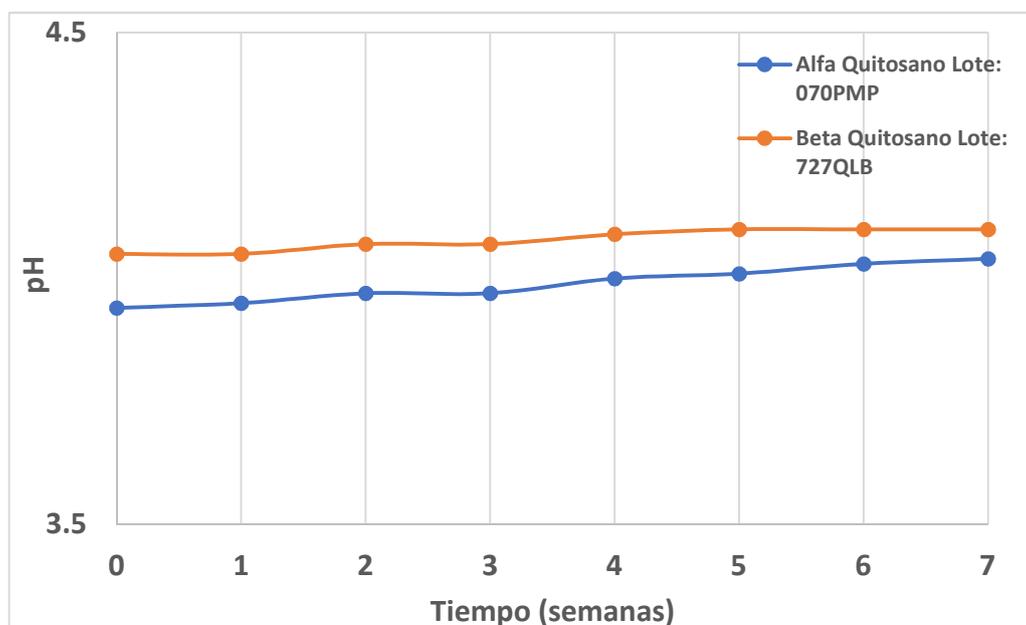


Figura 47. Representación gráfica de la estabilidad del pH de las soluciones de quitosanos al 1% p/v evaluada en un período 7 semanas.

Con respecto a las viscosidades, se observa que el quitosano β al 1% p/v, presentó un menor resultado inicial de 155 cP comparado con el quitosano α en 168 cP. Se puede interpretar que estas diferencias están relacionadas tanto con sus pesos moleculares como con la influencia de las fuerzas de sus enlaces. Por lo tanto, en el caso del quitosano β , la viscosidad obtenida se asocia con su peso molecular de 795.13 kDa, el cual es inferior al valor del quitosano α de 890 kDa. Este último, es el biopolímero que presenta fuerzas intra e intermoleculares más fuertes, por lo que se presume que a su

vez aumentó su volumen hidrodinámico, y como consecuencia su viscosidad se incrementó.

Al transcurrir la primera semana del estudio de estabilidad, se observó un descenso en la viscosidad de ambos quitosanos, lo cual se mantuvo hasta finalizar las 7 semanas de evaluación. Una posible explicación a este comportamiento, se asocia a la consecuencia de la adición del hidróxido de sodio sobre las soluciones de ambos quitosanos, el cual se disocia en iones Na^+ y OH^- , los que podrían interferir en el equilibrio del medio. La presencia de los iones OH^- provenientes de esta base fuerte, podría ser capaz de ocasionar la neutralización de la repulsión electrostática de los iones $-\text{NH}_3^+$ del quitosano, disueltos en la solución. Como consecuencia de ello, la molécula de quitosano modificaría su conformación molecular, disminuyendo su volumen hidrodinámico debido a la preferencia del agua por solvatar al ión hidroxilo ante el ión amonio del polímero. Este efecto producido por la solvatación del medio acuoso, es lo que podría influir directamente en el descenso de la viscosidad³⁹.

Los resultados obtenidos luego de la evaluación de estabilidad por 7 semanas, se presentan en la Tabla 5 y se representan gráficamente en la Figura 48. La precisión de la determinación de la viscosidad Brookfield, es del 1%. En el Apéndice se presenta el detalle de las mediciones por triplicado realizadas a cada muestra.

Tabla 5. Evaluación de la estabilidad de la viscosidad de las soluciones de quitosanos al 1% p/v durante 7 semanas a 25°C:

Muestra	Medición de la Viscosidad (cP)							
	(25°C, Brookfield LVT, aguja 2, 30rpm. Medido a soluciones de quitosano al 1% p/v en solución de ácido acético). Tiempo "S" = semanas. Precisión de los datos es $\pm 1\%$							
	Inicial (t=0)	t=1S	t=2S	t=3S	t=4S	t=5S	t=6S	t=7S
Quitosano α								
Lote: 070PMP	168	121	112	105	98	92	87	77
Quitosano β								
Lote: 727QLB	155	130	126	117	111	100	91	82

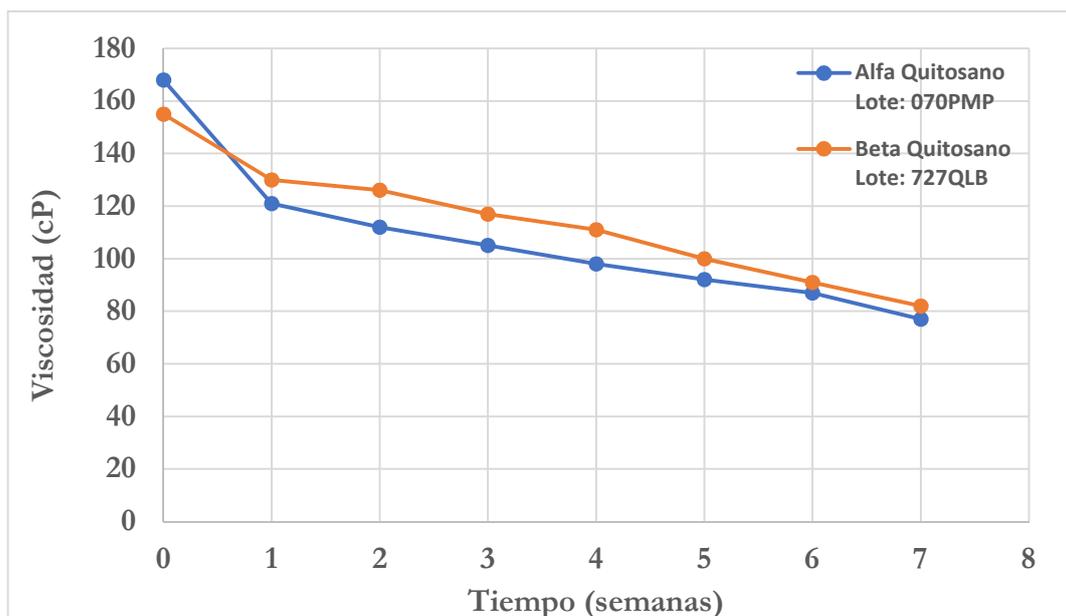


Figura 48. Representación gráfica de la estabilidad de la viscosidad de las soluciones de quitosanos al 1% p/v en un período 7 semanas.

Resultados de la determinación del grado de desacetilación de los quitosanos α y β bajo la técnica IR-TF.

La Tabla 6 presenta el resumen de las señales observadas en cada espectro IR-TF de los quitosanos α y β , los cuales se ven representados en las Figuras 49 y 50 respectivamente.

En general ambos espectros presentan señales de % transmitancia muy similares en todo el rango de evaluación entre 400cm^{-1} y 4000cm^{-1} pero con diferencias apreciables en sus intensidades. En particular, no se observan diferencias significativas en la banda de tensión del carbono anomérico que distingue la conformación α de la β en 893.45cm^{-1} y 894.42cm^{-1} respectivamente.

La Figura 51 presenta una comparación de los espectros de ambos polisacáridos, en la cual se han identificado los diferentes grupos funcionales que caracterizan su estructura molecular.

Tabla 6. Comparación de las señales presentes en los espectros IR-TF de los quitosanos puros α y β .

Descripción de las señales en el espectro IR	Quitosano α L: 070PMP(cm^{-1})	Quitosano β L: 727QLB(cm^{-1})
Vibración de alargamiento de los grupos O-H y N-H solapados	3354.40	3355.41
	3291.34	3292.89
Tensión asimétrica de extensión del enlace C-H	2872.85	2872.41
Vibración asimétrica de tensión del enlace C=O del grupo amida	1650.50	1650.50
Deformaciones combinadas del grupo amino primario NH_2	1590.28	1590.24
Flexión asimétrica del enlace C-N de la función amida	1420.91	1424.40
Estiramiento CH_3 del grupo acetamido	1376.08	1376.84
Tensión asimétrica del enlace CH_3 , presente en el grupo N-acetil glucosamina.	1321.02	1320.38
Vibración del grupo C-O	1258.33	1259.88
Flexión asimétrica del enlace 1,4 glicosídico C-O-C	1149.48	1150.73
	1060.12	1060.23
Tensión de carbonos anoméricos	893.45	894.42

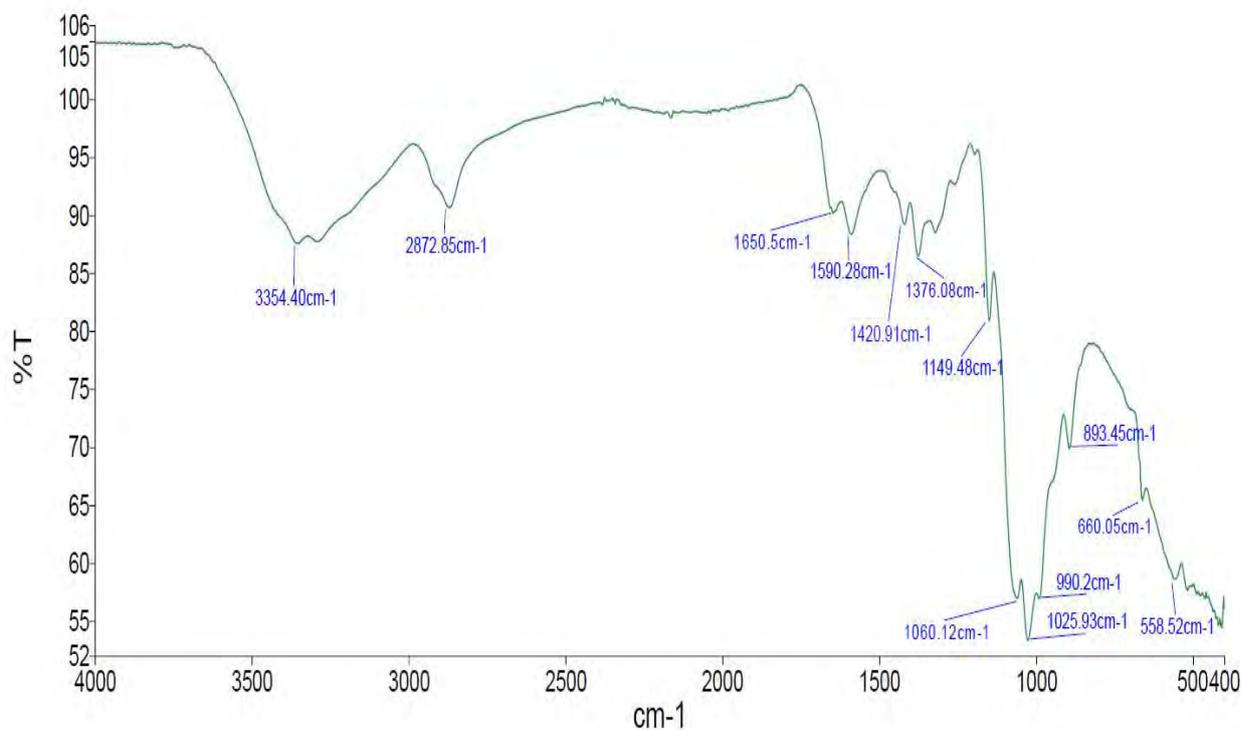


Figura 49. Espectro IR-TF del quitosano α – Lote 070PMP – Modo transmitancia

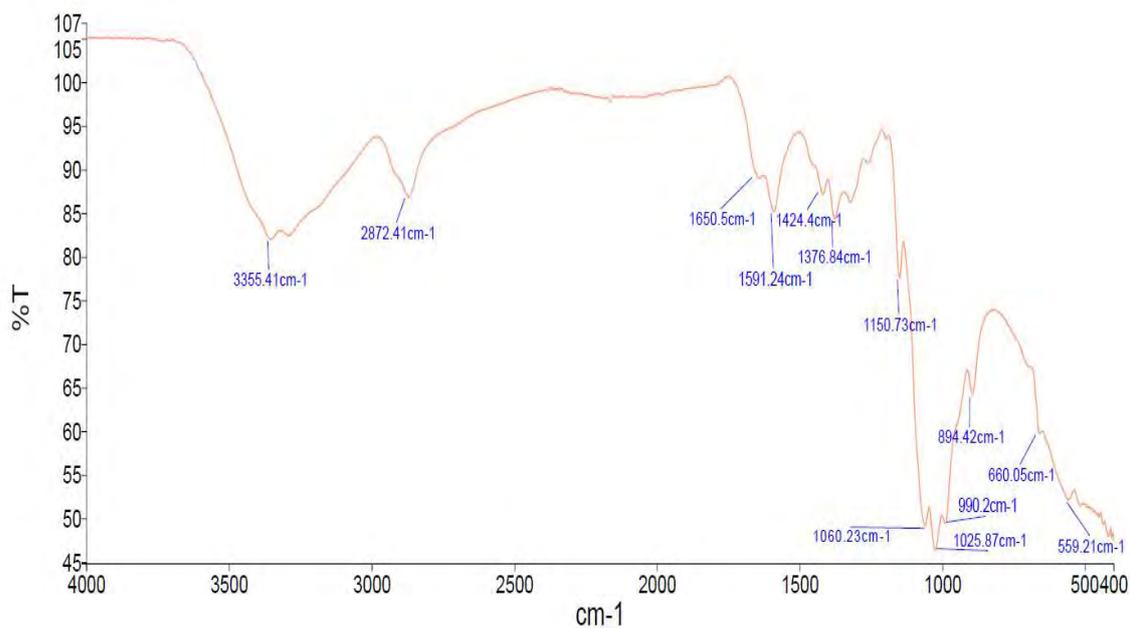


Figura 50. Espectro IR-TR del quitosano β –Lote 727QLB – Modo transmitancia

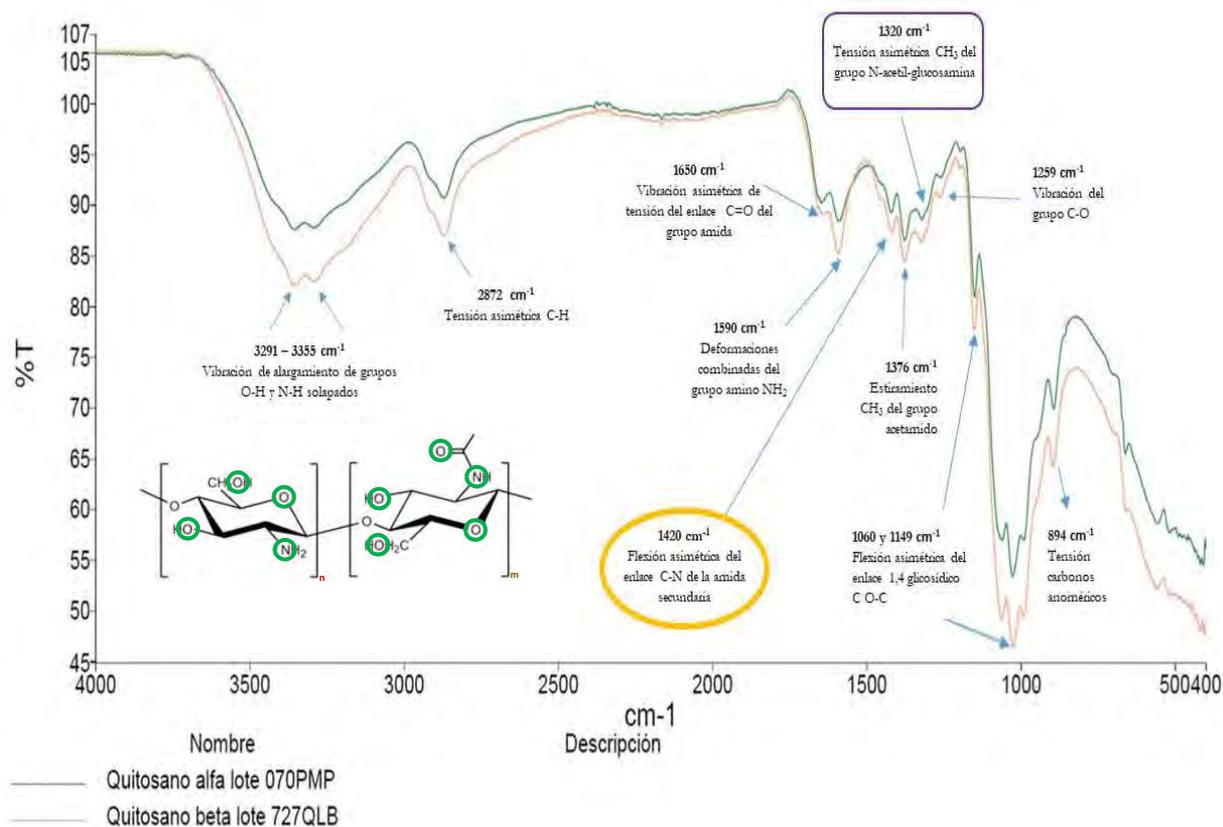


Figura 51. Comparación de espectros IR-TR para los quitosanos α y β , identificando los grupos funcionales principales. La estructura molecular muestra los sitios en los cuales se pueden formar los puentes de hidrógeno.

Se han podido distinguir las bandas asociadas a los enlaces de hidrógeno presentes en ambos quitosanos, así como el estiramiento -C-H , identificados en el rango entre 2800 cm^{-1} y 3500 cm^{-1} . Se evidencia que ambos quitosanos presentan las mismas señales de grupos funcionales característicos, sin embargo, se observa un cambio en la intensidad de las bandas en el espectro del quitosano β . Este hecho podría estar relacionado con la posible formación de fuertes enlaces de hidrógeno entre el agua de hidratación presente en esta molécula, y los grupos funcionales N-H, O-H y C-H del quitosano. La cantidad de agua presente en cada polisacárido, ha sido confirmada en 3.78% para el isómero β y en 2.71% para el isómero α a través de la termobalanza OHAUS.

Adicionalmente, se destaca que existe mayor flexión asimétrica del enlace 1,4 glicosídico en el isómero β , lo cual podría derivarse de una libre rotación bajo esta conformación molecular, hecho que pudiera resultar más impedido en la estructura α .

En la Figura 52 se ilustran los posibles enlaces de hidrógeno presentes en la estructura de los polisacáridos de quitosano, asociados a los carbonos 6, 3 y 2, entre los que se destaca el enlace $\text{C(6)H-O}\dots\text{HNC(2)}$ como el que requiere mayor movilidad molecular para incrementar su intensidad, dada la lejanía de sus grupos funcionales polares.

- $\text{C(6)O-H}\dots\text{O=C}$,
- $\text{C(3)O-H}\dots\text{O}$,
- $\text{C(6)O-H}\dots\text{OHC(3)}$,
- $\text{C(2)N-H}\dots\text{O=C}$, y
- $\text{C(6)H-O}\dots\text{HNC(2)}$

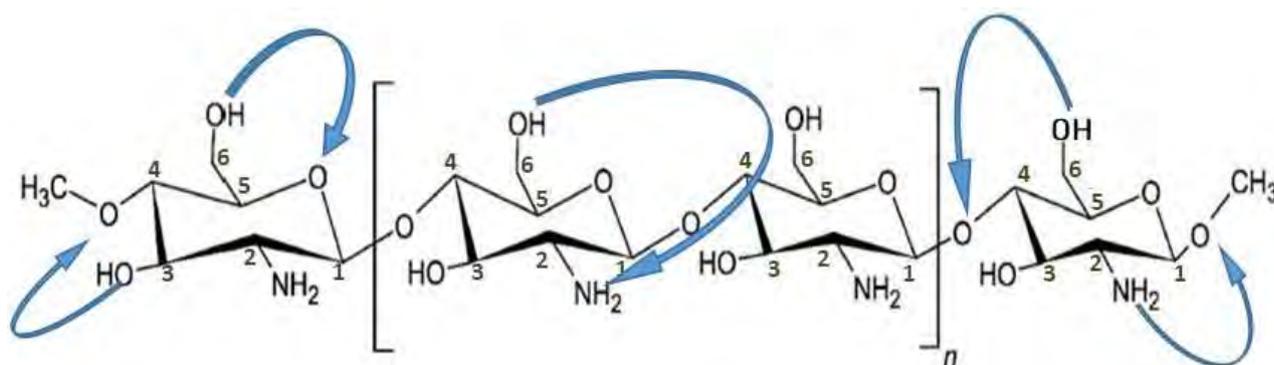


Figura 52. Descripción de los enlaces de hidrógeno intramoleculares que puede formar la molécula del quitosano.

Por otro lado, el grado de acetilación GA, aunque es muy similar en ambos quitosanos, se manifiesta por la presencia de bandas de mediana intensidad, pero bien definidas

entre 1200 cm^{-1} y 1650 cm^{-1} . Estas señales se asocian al residual del grupo acetamido derivado del proceso de desacetilación de la quitina.

Las Tablas 7 y 8 muestran el resumen de señales acotadas para la integración del espectro considerando un rango de 1280 cm^{-1} a 1340 cm^{-1} para integrar la señal de alrededor de 1320 cm^{-1} . Mientras que, para integrar la señal en aproximadamente 1420 cm^{-1} se consideró un rango entre 1402 cm^{-1} y 1440 cm^{-1} .

Tabla 7. Coordenadas de integración de las señales para quitosano α - software OPUS Spectroscopy

Identificación de la señal (cm^{-1})	Señal en el espectro IR	Área integrada	Rango de integración
A1320	1321.02 cm^{-1}	0.1815	1280-1340
A1420	1420.91 cm^{-1}	0.055	1402-1440
Relación A1320/A1420	3.30		

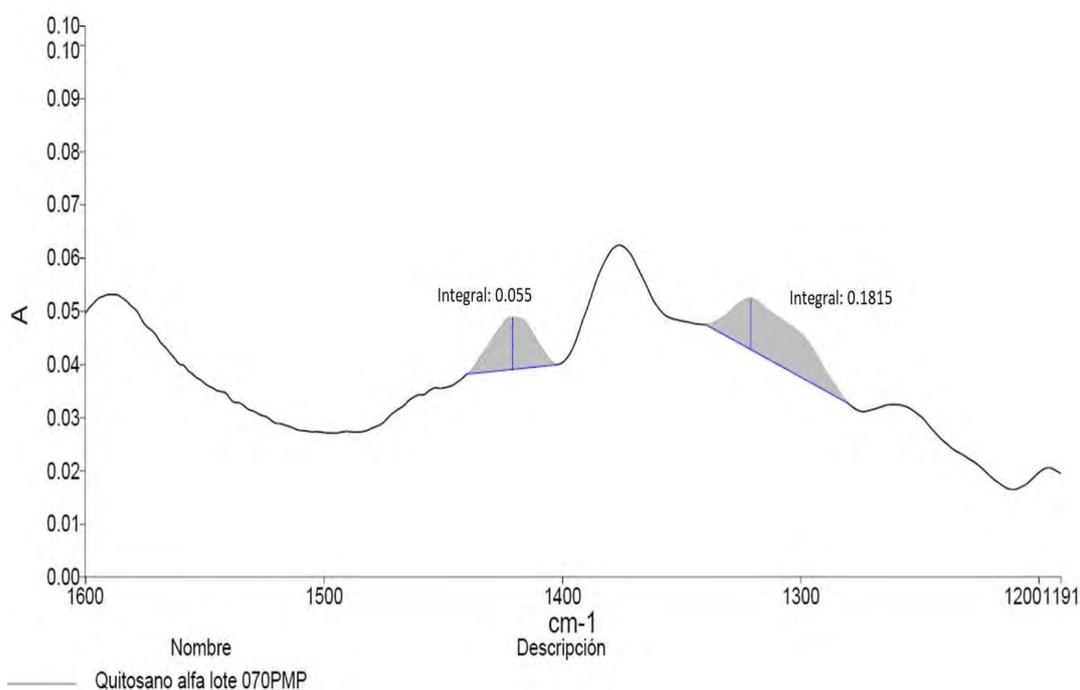


Figura 53. Integración de señales IR para quitosano α (1420.91 cm^{-1} y 1321.02 cm^{-1}).

Tabla 8. Coordenadas de integración de las señales para quitosano β - software OPUS Spectroscopy

Identificación de la señal (cm^{-1})	Señal en el espectro IR	Área integrada	Rango de integración
A1320	1320.38 cm^{-1}	0.1627	1280-1340
A1420	1424.40 cm^{-1}	0.049	1402-1440
Relación A1320/A1420	3.32		

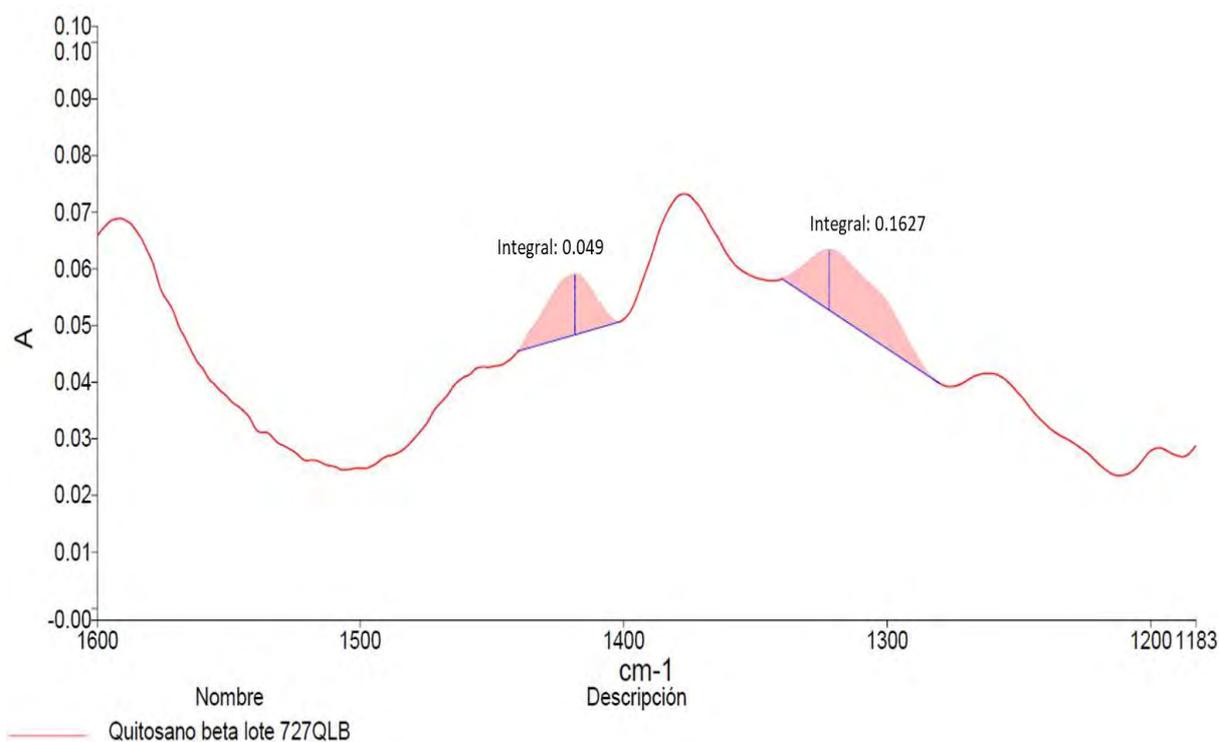


Figura 54. Integración de señales IR para quitosano β (1424.40 cm^{-1} y 1320.38 cm^{-1}).

Las Figuras 53 y 54 muestran los espectros con la ampliación e integración de las señales a 1420 cm^{-1} y 1320 cm^{-1} para las dos moléculas de quitosano, las cuales fueron calculadas a través del software OPUS Spectroscopy con una resolución de 4.1 cm^{-1} .

Las áreas integradas cercanas a 1420 cm^{-1} corresponden a 0.055 para el quitosano α y 0.049 para el quitosano β . En aproximadamente 1320 cm^{-1} las áreas calculadas fueron 0.1815 para el quitosano α y 0.1627 para el quitosano β .

Aplicando las ecuaciones (8) y (9), se obtuvieron los siguientes resultados experimentales para el cálculo del grado de acetilación y desacetilación de estas dos moléculas:

Cálculos para el quitosano β :

$$A_{1320.38} = 0.1627$$

$$A_{1424.40} = 0.049$$

Empleando la Ecuación (8) obtenemos el GDA:

$$GDA\beta = (31.92 \times (0.1627/0.049) - 12.20) = 93.7874 \%$$

Empleando la Ecuación (9) obtenemos el GA:

$$GA\beta = 100 - GDA\beta = 100 - 93.7874 = 6.2126 \%$$

Resultados reportados por el fabricante para quitosano β lote 727QLB:

$$GDA\beta = 93.77\%$$

$$GA\beta = 6.23\%$$

Cálculos para el quitosano α :

$$A_{1321.02} = 0.1815$$

$$A_{1420.91} = 0.055$$

Empleando la Ecuación (8) obtenemos el GDA:

$$GDA\alpha = (31.92 \times (0.1815/0.055) - 12.20) = 93.1360 \%$$

Empleando la Ecuación (9) obtenemos el GA:

$$GA\alpha = 100 - GDA\beta = 100 - 93.1360 = 6.8640 \%$$

Resultados reportados por el fabricante para quitosano α lote 070PMP:

$$GDA\alpha = 93.09\%$$

$$GA\alpha = 6.91\%$$

A través de la metodología aplicada, ha sido posible obtener resultados del grado de acetilación GA y grado de desacetilación GDA de ambos polisacáridos, los cuales han resultado muy similares a los reportados por el fabricante de ambas moléculas.

La Tabla 9 presenta la comparación de los resultados obtenidos por ambas técnicas.

Tabla 9. Comparación de resultados GDA y GA entre técnicas IR-TF y ¹HRMN.

Tipo de quitosano	Reporte	%GDA	%GA
Quitosano α	Cálculo IR-TF	93.14	6.86
	¹ HRMN (Reporte del fabricante)	93.09	6.91
Quitosano β	Cálculo IR-TF	93.79	6.21
	¹ HRMN (Reporte del fabricante)	93.77	6.23

Dada la precisión de estos resultados, se puede considerar que esta técnica IR-TF resultó una herramienta eficaz para caracterizar ambos poliscáridos los cuales posteriormente serían funcionalizados bajo reacciones químicas tipo injerto y base de schiff.

Análisis cualitativo de los patrones de difracción de RX obtenidos para los quitosanos α , β y el soporte de alfa celulosa.

Los quitosanos α y β en estado sólido (polvo), así como el soporte de alfa celulosa, fueron colocados en el portamuestras múltiple del equipo difractómetro de RX. Los patrones de difracción característicos para estos tres polisacáridos estudiados, se obtuvieron como consecuencia de la dispersión de los rayos X incidentes sobre estas moléculas. Los resultados pueden ser apreciados en la Tabla 10 y las Figuras 55-57.

El análisis cualitativo de los difractogramas de intensidad de reflexión en función al ángulo 2θ , revela la presencia de picos anchos de intensidad variable. Para ambos quitosanos, la línea base del patrón de difracción se observa de gran magnitud o altamente difusa, lo cual podría ser consecuencia de las zonas amorfas en ambas muestras. En el difractograma obtenido para el quitosano α , se pueden apreciar dos picos de baja y mediana intensidad, ubicados a 10.16° y 19.99° respectivamente. Al comparar con el obtenido para el quitosano β , el primer pico prácticamente no se aprecia, indicando un incremento en la amorficidad o pérdida de orden en el empaquetamiento de los átomos de este polisacárido. El único pico observado, es más ancho y de menor intensidad que el que presenta el quitosano α y se detectó en un ángulo de 19.78° .

Una posible explicación para el comportamiento difuso que se ha observado en gran magnitud en estas muestras de quitosanos, puede relacionarse con su alto grado de desacetilación y con la presencia de humedad. Este hecho se presume, debido a que durante el proceso de deacetilación de la quitina, el cual puede involucrar etapas

consecutivas de hidrólisis, ocasionaría la pérdida de su alta cristalinidad inicial. Por otra parte, la humedad de estas muestras, podría intervenir en la definición e intensidad de los picos, causando interferencia en las interacciones de los átomos que conforman la estructura. Adicionalmente, debido a que el quitosano β presenta estructuras paralelas, se podría asociar este hecho con la diferencia significativa que presentan sus patrones de difracción. Estos resultados sugieren que el quitosano β presenta una estructura muy poco ordenada en la cual predomina la amorficidad.

Por su parte, el patrón de difracción del soporte de celulosa compuesto de fibras largas vírgenes, presentó dos picos de gran intensidad ubicados a 15.26° y 22.77° . Se puede interpretar que debido a su línea base amplia, la cual abarca varios ángulos de difracción 2θ , así como la presencia de picos poco estrechos, éste compuesto también presenta amorficidad. Sin embargo, la alta intensidad y la mayor definición de sus dos picos, permiten suponer que posee un empaquetamiento más ordenado de sus átomos, claramente mayor al observado para ambos quitosanos.

Tabla 10. Comparación de las señales observadas en los difractogramas RX. Medición de la intensidad con respecto al ángulo 2θ .

Muestra	Ángulo 2θ ($^\circ$)	GDA (%)	GA (%)	% Agua
Quitosano α	10.16	93.14	6.86	2.74
	19.99			
Quitosano β	-	93.79	6.21	3.75
	19.78			
Alfa celulosa	15.26	-	-	
	22.77			

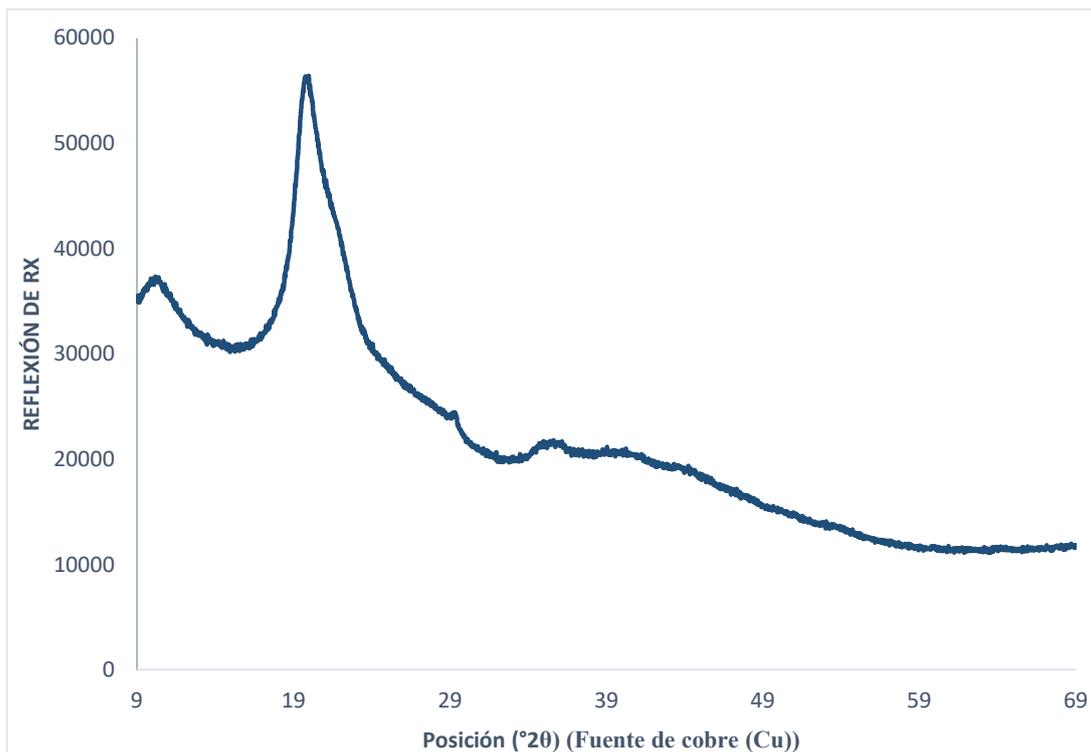


Figura 55. Difractograma de rayos X para la muestra de quitosano α puro.

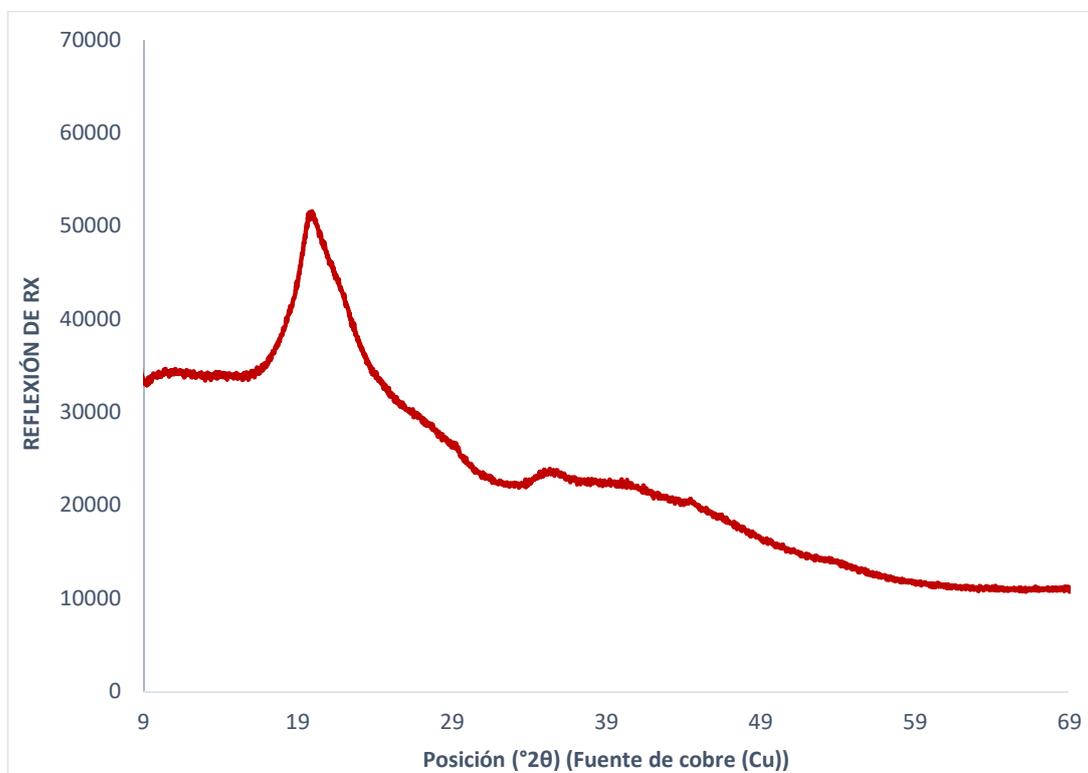


Figura 56. Difractograma de rayos X para la muestra de quitosanos β puro.

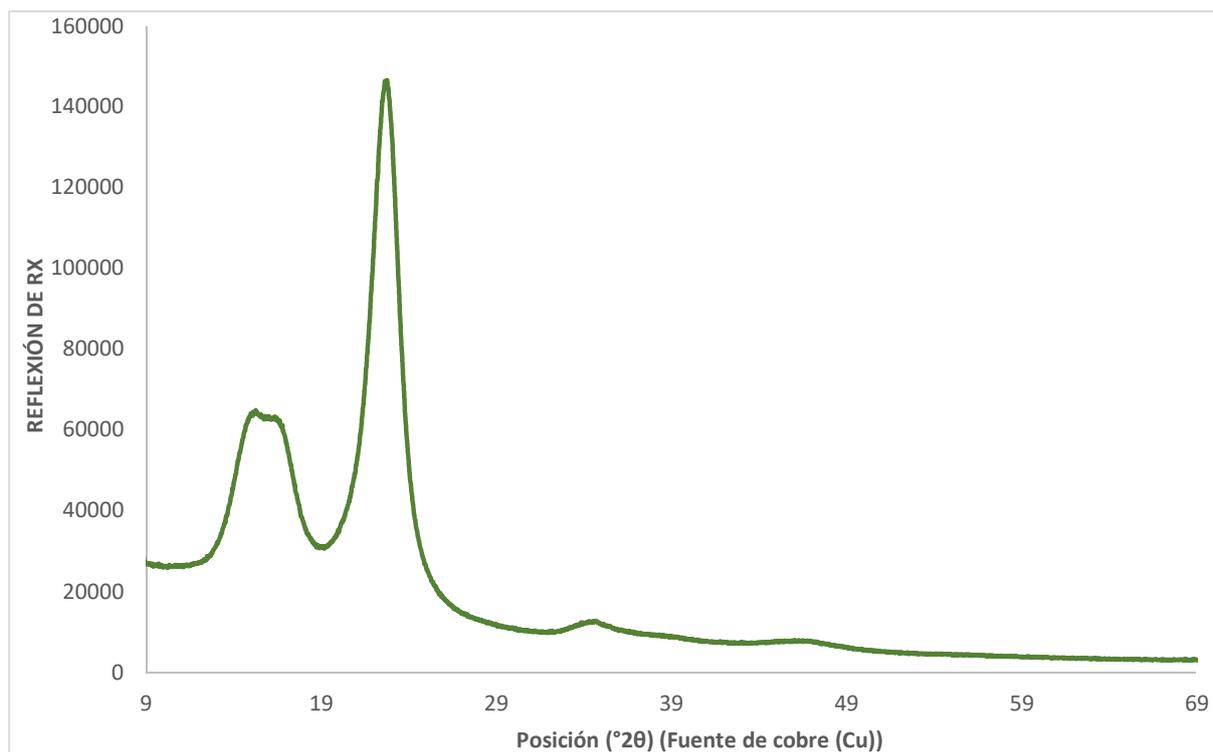


Figura 57. Difractograma de rayos X para el soporte de alfa celulosa.

Determinación de la fuerza de adhesión para el soporte de alfa celulosa y quitosanos α y β , empleando la técnica de microscopía de fuerza atómica (MFA) - modo intermitente.

A través de la técnica de microscopía MFA, se han podido medir las fuerzas de adhesión a nanoescala, así como identificar la topografía a nivel molecular de los quitosanos α , β y el soporte de alfa celulosa. La aplicación de esta técnica consistió en poner en contacto una punta de silicio de 2nm de radio con la muestra del polisacárido, lo cual permitió cuantificar las interacciones intermoleculares detectadas. Las curvas de fuerza en función a la distancia de separación de la punta, reflejaron comportamientos característicos para cada muestra. Para evaluar los polimorfos del quitosano, se emplearon películas preparadas a partir de soluciones acuosas a pH 3.0, mientras que el soporte de alfa celulosa se colocó directamente en el disco portamuestras.

Las representaciones gráficas de estas mediciones, se observan en las Figuras 58-60. Las fuerzas atractivas (de adhesión) y repulsivas electrostáticas fueron medidas. Adicionalmente, se refleja el área de contacto punta-muestra, la cual caracteriza de forma cualitativa, la rigidez molecular de cada polisacárido. La cuantificación de la fuerza de adhesión, se logró al detectar la atracción molecular punta-muestra, cuya

intensidad es capaz de vencer la deflexión elástica del brazo voladizo de nitruro de silicio.

Las mediciones fueron realizadas 10 veces en 02 áreas aleatorias de cada muestra, empleando el modo de contacto intermitente. Las Tablas 11-13, presentan los resultados individuales y promedios, expresados en nN (nanonewton) y la Figura 61 representa el gráfico final comparativo de los tres polisacáridos evaluados.

De los resultados obtenidos, se puede destacar que la fuerza de adhesión sobre la película de quitosano β , resultó ser significativamente superior a la registrada con la muestra de quitosano α . Se cuantificaron 19nN para el quitosano β y solo 3.5nN para el quitosano α , lo cual corresponde a una diferencia relevante del 81.6%. Este comportamiento pudiera ser asociado con algunas características que diferencian estos dos polimorfos y que puede diferenciarse a una escala nanométrica. Algunas de estas características se pudieran interpretar, considerando los siguientes hechos:

Se apreció que durante el contacto punta-muestra, la superficie de la película de quitosano α no sufrió penetración de la punta, demostrando que se trata de un material más rígido que el quitosano β . Como consecuencia, se podría interpretar que debido a que resultó ser además un poco más cristalino que β , presentaría una flexibilidad molecular más impedida. Este hecho pudo ser demostrado durante el barrido de la punta al detectar la topografía de las películas, las cuales se evidencian en las Figuras 62 y 63. La estructura del quitosano α posee una rugosidad superficial inferior a β , cuantificándose en 4.1nm mientras que el isómero β duplica su valor con 8.1 nm. El polimorfo β por tanto, ha demostrado ser mucho más amorfo o irregular y por ende podría presentar una mayor movilidad de su estructura que α , lo cual ha favorecido las interacciones atractivas cuantificadas a nivel nanoscópico. La distancia a la cual se detectaron estas fuerzas atractivas, resultó en 0.25 μ m para el quitosano β y 0.1 μ m para el quitosano α . Este hallazgo sugiere que las nubes electrónicas del quitosano α son más débiles y requieren de un mayor acercamiento para presentar una atracción adhesiva.

Por otro lado, la medición de las fuerzas de adhesión para el soporte de alfa celulosa, generó un valor promedio de 3.7 nN a una distancia de 0.25 μ m. Este valor resultó cercano al promedio de la medición realizada sobre la película de quitosano α , pero nuevamente la magnitud de las distancias, así como la presencia de grupos funcionales más polares en la celulosa, pueden confirmar este comportamiento molecular diferenciado. Además, pudo observarse que la estructura de alfa celulosa, presentó características de rigidez, mientras que superó a los quitosanos en la propiedad de rugosidad, con intensidades en el mapa 3D que alcanzan los 565nm según se evidencia en la Figura 64.

Finalmente, la evaluación topográfica, se completó con microfotografías en 2D para las 3 superficies evaluadas. Se estudiaron los comportamientos morfológicos de las películas de todos los polímeros los cuales mostraron alta dispersión en el perfil de rugosidad. Otros gráficos y microfotografías en 2D, se presentan en el Apéndice.

Tabla 11. Determinación de la fuerza de adhesión (nN) vía MFA – Modo de contacto intermitente. Resultados para quitosano α

	Medición	Fuerza de adhesión (nN)
Área I	1	2.92
	2	2.94
	3	2.95
	4	2.93
	5	2.94
Área II	6	3.89
	7	4.06
	8	3.96
	9	3.97
	10	3.98
Promedio $\pm 2\sigma$		(3.45 \pm 1.08) nN

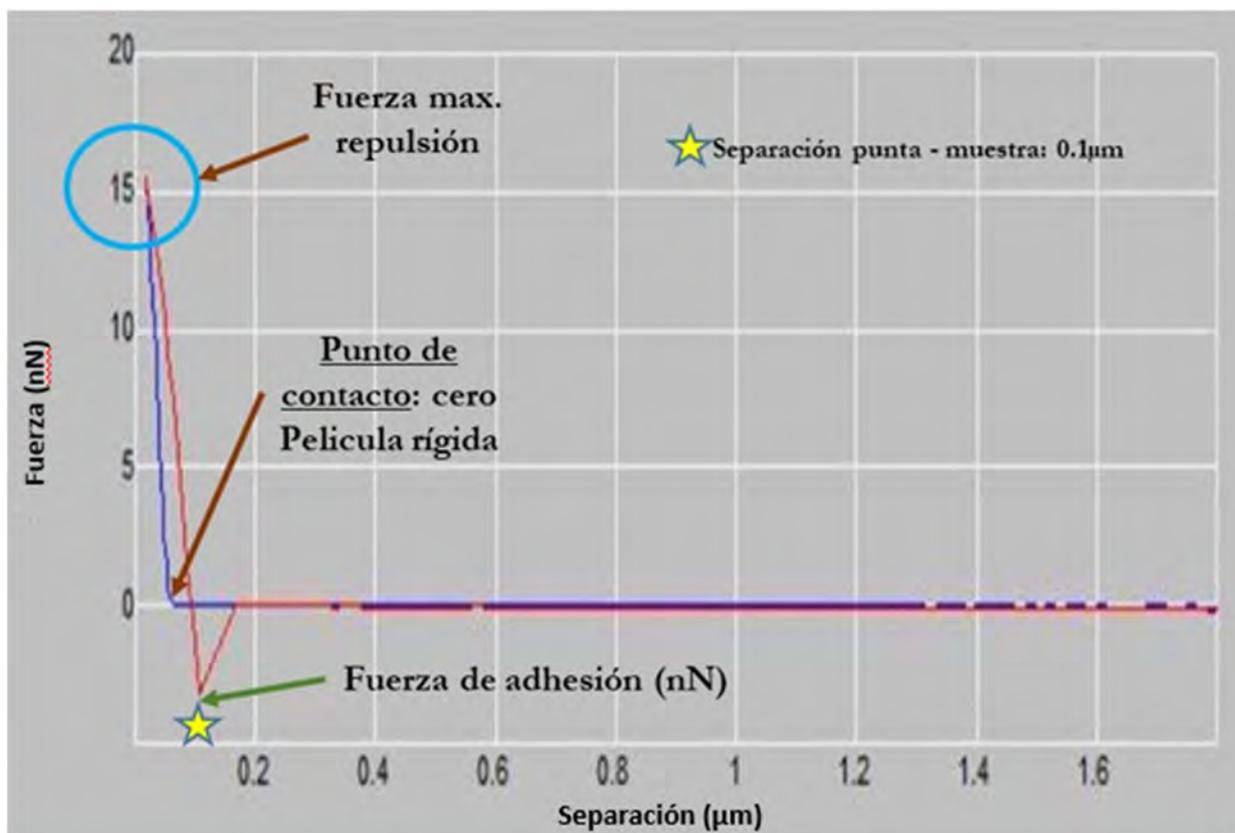


Figura 58. Representación gráfica de la medición de fuerza de adhesión (atractiva) y la fuerza de repulsión para el quitosano α .

Tabla 12. Determinación de la fuerza de adhesión (nN) vía MFA- Modo de contacto intermitente. Resultados para quitosano β

	Medición	Fuerza de adhesión (nN)
Área I	1	17.95
	2	17.91
	3	19.38
	4	20.96
	5	19.32
Área II	6	16.69
	7	17.30
	8	21.59
	9	21.72
	10	17.62
Promedio $\pm 2\sigma$		(19.04 \pm 3.48) nN

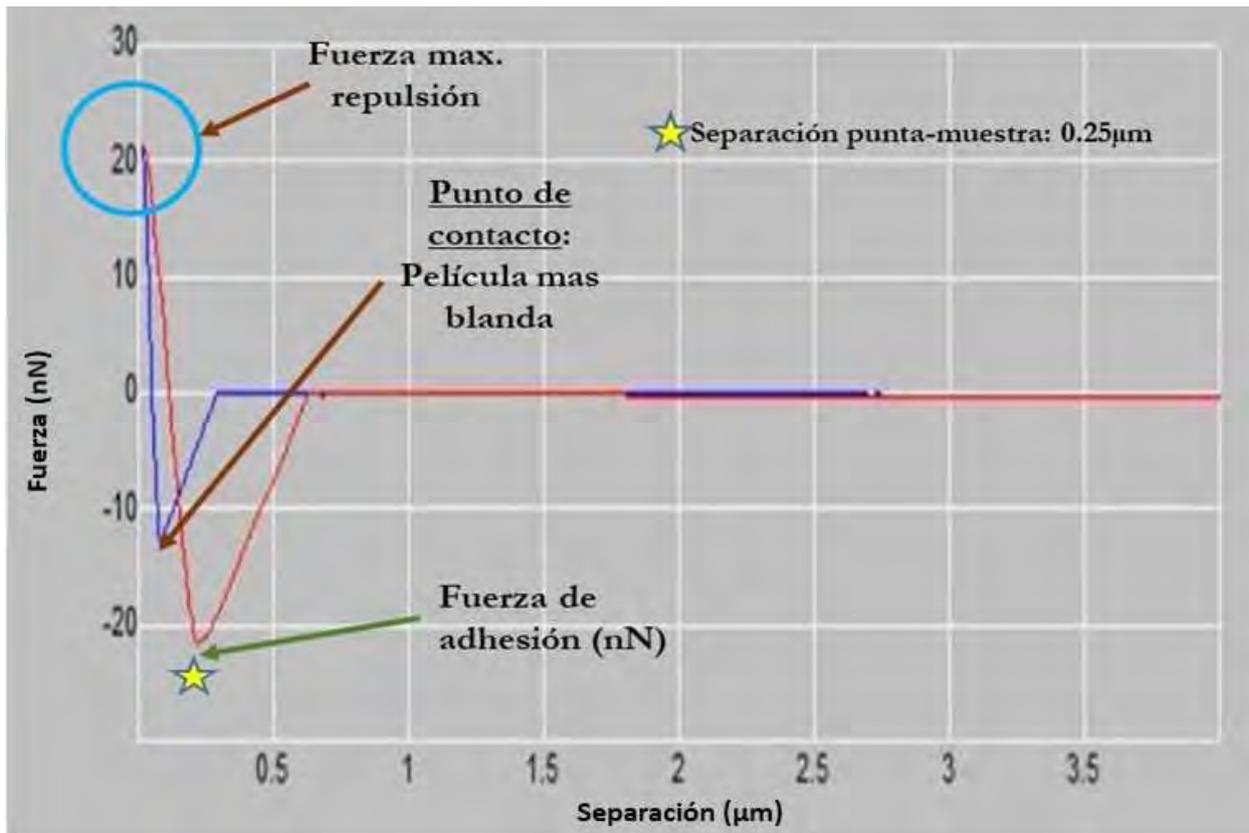


Figura 59. Representación gráfica de la medición fuerza de adhesión (atractiva y la fuerza de repulsión para el quitosano β .

Tabla 13. Determinación de la fuerza de adhesión (nN) vía MFA – Modo de contacto intermitente. Resultados para soporte de alfa celulosa

	Medición	Fuerza de adhesión (nN)
Área I	1	3.54
	2	3.85
	3	3.86
	4	3.81
	5	4.22
Área II	6	4.16
	7	3.42
	8	3.70
	9	3.63
	10	3.15
Promedio $\pm 2\sigma$		(3.73 ± 0.81) nN

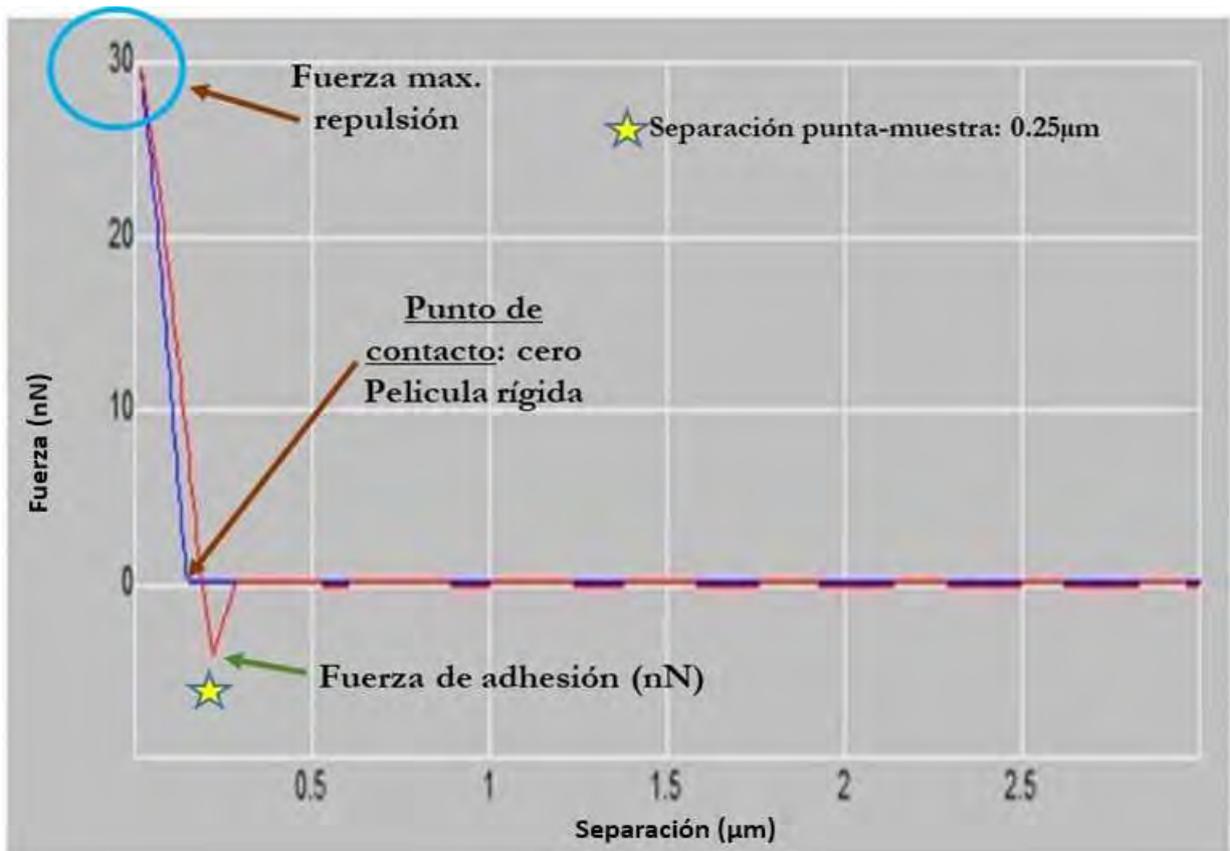


Figura 60. Representación gráfica de la medición de la fuerza de adhesión (atractiva) y la fuerza de repulsión para alfa celulosa.

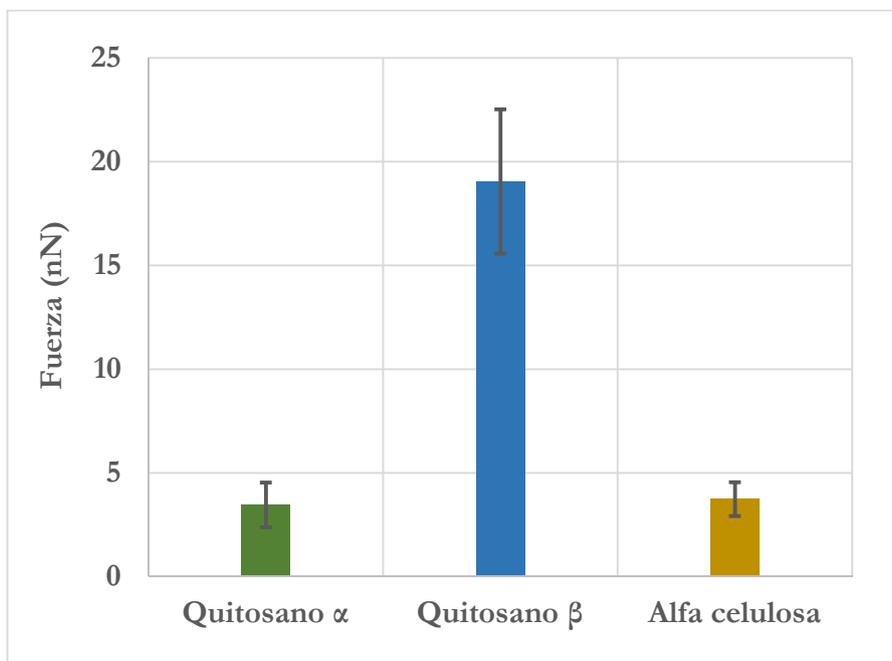


Figura 61. Comparación de la fuerza de adhesión promedio detectada para cada polisacárido.

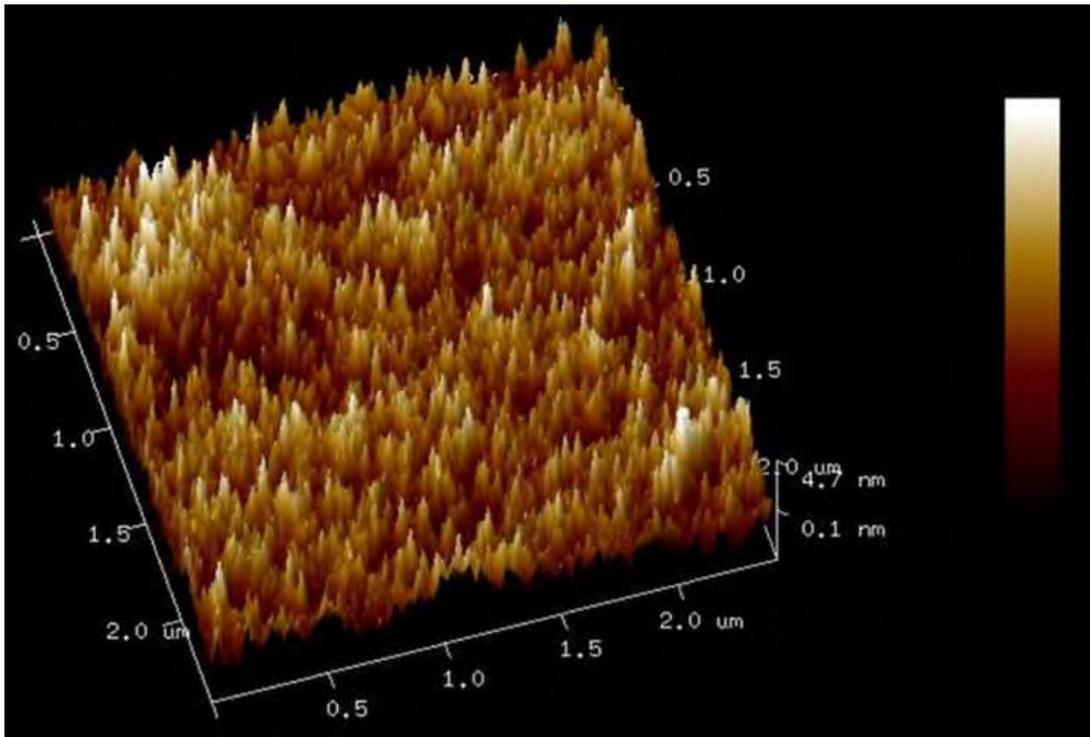


Figura 62. Microfotografía 3D de la película de quitosano α bajo microscopía MFA. Evaluación topográfica de la rugosidad.

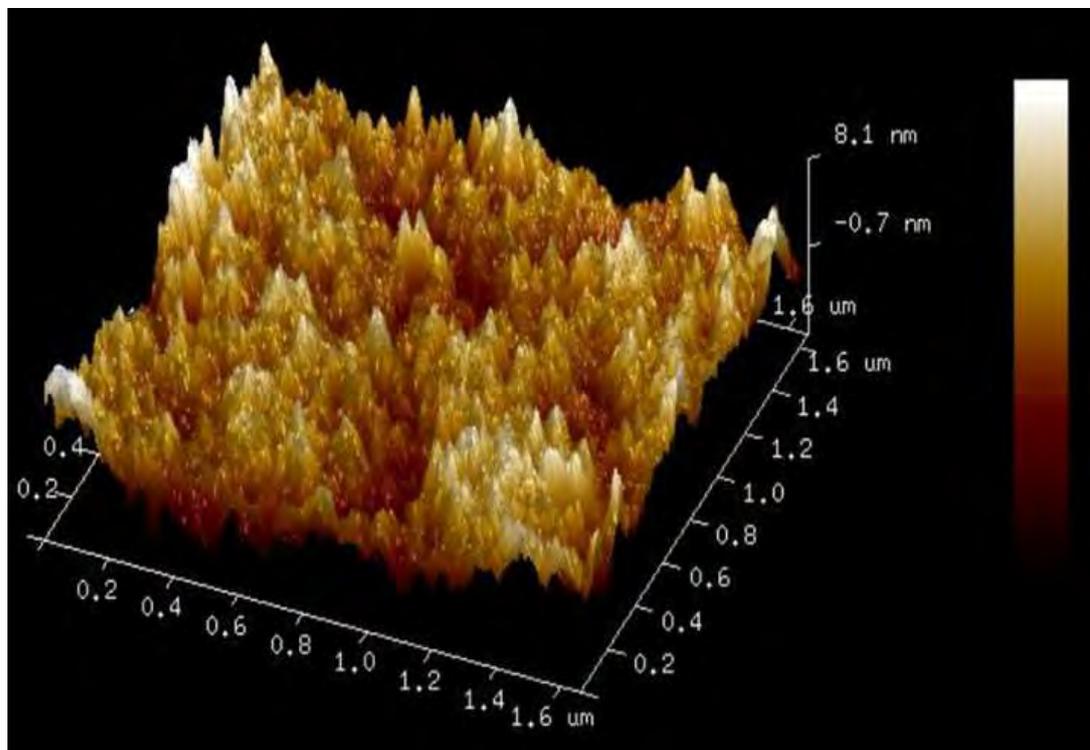


Figura 63. Microfotografía 3D de la película de quitosano β bajo microscopía MFA. Evaluación topográfica de la rugosidad.

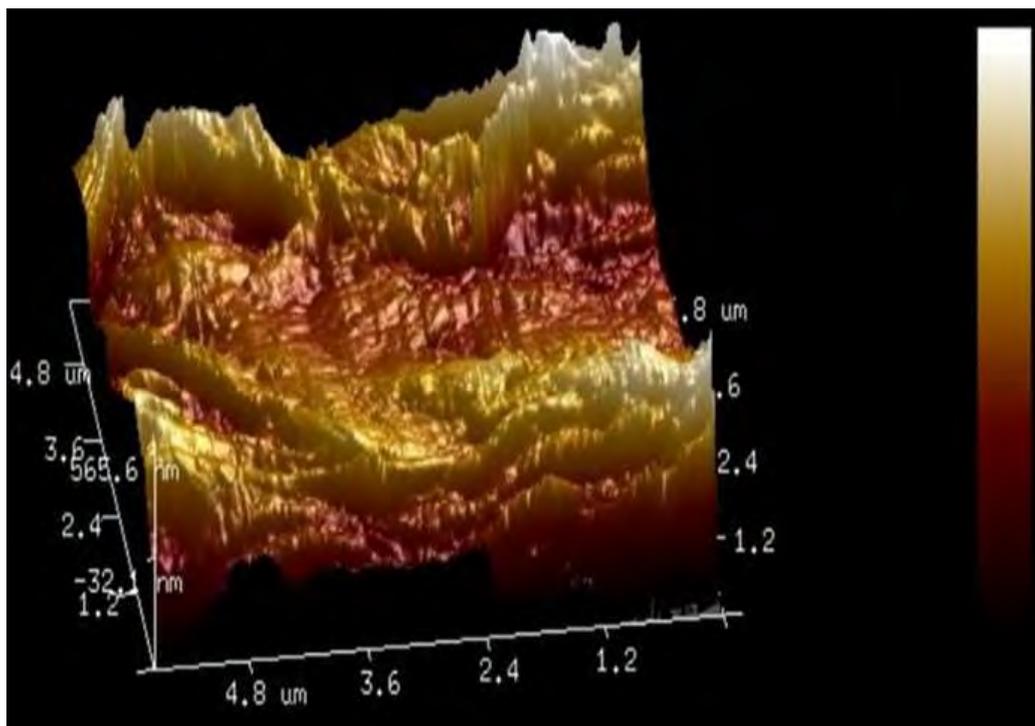


Figura 64. Microfotografía 3D del soporte de celulosa bajo microscopía MFA. Evaluación topográfica de la rugosidad.

Resultados de la evaluación de las propiedades adhesivas de los quitosanos α y β puros.

Para evaluar la fuerza bioadhesiva de ambos quitosanos puros, se consideró la aplicación de tres soluciones a diferentes concentraciones, 1%, 2% y 2.5% p/v, las cuales se aplicaron sobre el soporte de alfa celulosa y se secaron en horno convencional por 1 min a 65°C.

Las evaluaciones de estas tres concentraciones, arrojaron resultados muy diferenciados, debido a que a una concentración del 2.5% p/v, los cuerpos de prueba presentaron delaminación durante el ensayo de tracción. Este hecho presume que la fuerza de adhesión resultante superó a la fuerza de cohesión del soporte de celulosa, debido a que se observó el rompimiento de las fibras internas del mismo. La Figura 65 evidencia el comportamiento que se ha manifestado al emplear esta concentración de las soluciones de ambos quitosanos.

Por el contrario, al disminuir la concentración al 1% p/v, las fuerzas de adhesión de los quitosanos α y β resultaron tan bajas que no se logró la unión con el soporte de celulosa. Como consecuencia, no se pudieron evaluar los cuerpos de prueba con el equipo de tracción. En este caso, se puede suponer que a esta concentración, las interacciones intermoleculares entre estos polisacáridos, son muy débiles o nulas.

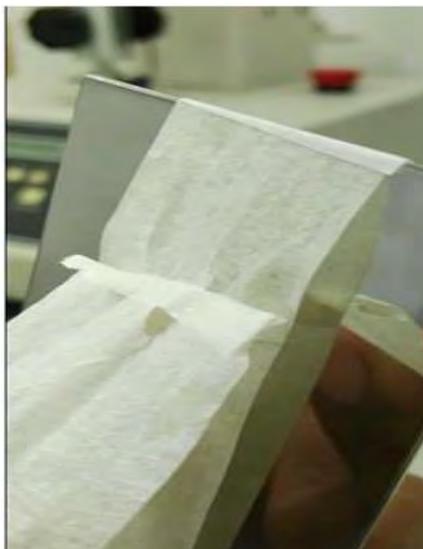


Figura 65. Soporte de alfa celulosa delaminado. Evaluación de ensayo de resistencia al pelado empleando solución de quitosano al 2.5% p/v.

Al evaluar la fuerza de adhesión de las muestras a una concentración del 2% p/v, se lograron obtener resultados reproducibles y estadísticamente estacionarios, los cuales se evidencian en la Tabla 14. Al comparar los valores promedios, se observa que el quitosano α presentó una fuerza de 55 gf/cm, mientras que el quitosano β duplicó este resultado, reportándose 105 gf/cm. Este hecho sugiere que las interacciones intermoleculares entre la celulosa y el quitosano β son más fuertes, lo cual podría asociarse con la formación de un mayor número de enlaces tipo puentes de hidrógeno intermolecular. Como ya se ha evidenciado a través del estudio de difracción RX, la estructura del quitosano β presenta más amorficidad. Esta característica le permitiría formar enlaces a menor distancia y por tanto más fuertes, entre sus grupos funcionales polares $-N-H$ y $O-H$ y los múltiples grupos hidroxilos de la celulosa,

Por su parte, el quitosano α aun cuando posee los mismos grupos funcionales que su isómero β , presenta mayor rigidez molecular dada su conformación de mayor cristalinidad. Esta propiedad estaría revelando una interacción más débil con la alfa celulosa la cual es superior en cristalinidad y ordenamiento molecular. Estos resultados permiten sugerir que la afinidad en fuerzas de adhesión es más débil entre estos polisacáridos cuando su empaquetamiento molecular incrementa su componente cristalino.

Tabla 14. Resultados de la medición de la fuerza de adhesión promedio de los quitosanos puros a una concentración del 2% p/v en los cuerpos de prueba tipo sándwich.

Fuerza de adhesión promedio (gf/cm) $\pm 3\sigma^*$	
Quitosanos puros	
Quitosano α al 2%p/v	Quitosano β al 2% p/v
55 \pm 18	104 \pm 21
54 \pm 19	105 \pm 21
Promedio: 55 \pm 19	Promedio: 105 \pm 21

*datos provienen de análisis estadístico con software R aplicando el test Dickey-Fuller, y la regla de las tres desviaciones estándar en la cual el 99.7% de los datos se encuentran en una distribución normal.

Resultados de la evaluación de la fuerza de adhesión de los quitosanos α y β funcionalizados con polivinilpirrolidona, a través de la fotorreacción UV tipo injerto.

Las soluciones de los quitosanos α , β y polímero PVP, fueron caracterizadas para determinar sus propiedades finales de concentración, pH y viscosidad, a partir de las cuales se realizaron 02 mezclas entre estos polímeros. La Tabla 15 presenta los resultados de estas evaluaciones, resaltando que la solución de polivinilpirrolidona presentó pH ácido, por lo cual no afectó la estabilidad de los quitosanos en solución, además posee baja viscosidad debido a su peso molecular 40 – 50 kDa.

Las mezclas preparadas presentaron un aspecto homogéneo y fueron caracterizadas según se indica en la Tabla 16.

Seguidamente, se realizó el recubrimiento de las 02 mezclas quitosano – PVP sobre el soporte de alfa celulosa. Las muestras tipo sándwich, se colocaron dentro de la cámara UV a una longitud de onda de 254 nm, como se representa en la Figura 66. Los tiempos de exposición fueron 5, 10, 15, 20 y 25 min, aplicando una baja intensidad de radiación UVC de 0.094 W/cm² a una distancia de 5 cm de separación de las muestras.

Tabla 15. Caracterización de las soluciones acuosas de PVP y quitosanos α y β .

Muestra	Aspecto	pH	Viscosidad (cP) **	Concentración (%) *
Quitosano α al 2.5% p/v Lote: 070PMP	Líquido transparente ligeramente amarillo	3.98	195	2.51
Quitosano β al 2.5% p/v Lote: 727QLB	Líquido transparente ligeramente amarillo	4.01	175	2.49
Polivinilpirrolidona al 10% p/v PVP – K30	Líquido transparente ligeramente amarillo	5.31	240	10.02

Aspecto y pH: (25°C, 50.5% humedad relativa)

* La concentración se determinó como materia sólida, empleando la termobalanza Ohaus, 105°C, 1g, secado automático.

** Viscosidad Brookfield LVT – aguja 2, 30 rpm, 25°C.

Tabla 16. Caracterización de las mezclas de quitosanos α , β con solución de PVP.

Código de la muestra	Concentración real de la mezcla (%)*	Aspecto de la Mezcla	pH	Viscosidad (cP)**
Qtα-2	2.04	Líquido transparente ligeramente amarillo	4.08	180
Qtα-PVP-1	2.05	Líquido transparente ligeramente amarillo	4.16	205
Qtα-PVP-2	4.02	Líquido transparente ligeramente amarillo	4.30	218
Qtβ-2	2.05	Líquido transparente ligeramente amarillo	4.05	164
Qtβ-PVP-1	2.02	Líquido transparente ligeramente amarillo	4.14	190
Qtβ-PVP-2	4.03	Líquido transparente ligeramente amarillo	4.25	205
PVP-2	2.02	Líquido transparente ligeramente amarillo	4.87	160

Aspecto y pH: (25°C, 50.5% humedad relativa)

* La concentración se determinó como materia sólida, empleando la termobalanza Ohaus, 105°C, 1g, secado automático.

** Viscosidad Brookfield LVT – aguja 2, 30 rpm, 25°C.



Figura 66. Muestras tipo sándwich dentro de la cámara de irradiación UVC.

La fotoreacción tipo injerto entre la molécula del quitosano y el polímero de polivinilpirrolidona, podría ocurrir debido a que bajo la luz UVC, ambos podrían formar radicales libres, los cuales reaccionarían entre sí para crear nuevos enlaces covalentes. Esta macromolécula resultante, incrementaría el número de grupos funcionales polares y la masa molecular, por lo que se esperaría que se formen películas más hidrofílicas altamente compatibles con el soporte de alfa celulosa. La reacción que da origen a estas uniones vía injerto, se describe en la Figura 67.

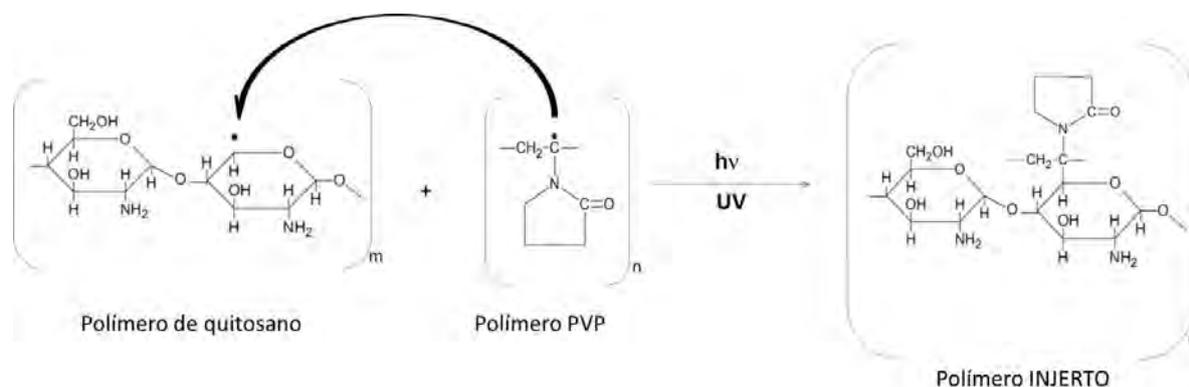


Figura 67. Fotoreacción tipo injerto bajo luz UV entre los polímeros de quitosano y polivinilpirrolidona.

Para la determinación de las fuerzas de adhesión se aplicó la metodología de resistencia al pelado en T, y los resultados obtenidos para ambas mezclas se analizan y presentan en las subsiguientes tablas y gráficas. El análisis estadístico de los resultados se realizó empleando el software R y aplicando el test Dickey-Fuller, considerando el criterio de

estacionariedad como rechazo de la hipótesis nula planteada. Para iniciar estos experimentos, se realizó un recubrimiento de la solución de PVP preparada sin incorporar el quitosano, y se colocó en la cámara UV durante 10 min. Al llevar la muestra al equipo de tracción, los soportes de papel se separaron por completo, por lo cual no fue posible cuantificar una fuerza de adhesión. Este experimento previo a la ejecución de los ensayos de fotoreacción, fue realizado para confirmar que la molécula de PVP no se comporta como un material bioadhesivo en estos experimentos.

Al realizar la medición de las fuerzas de adhesión para las mezclas a baja concentración de ambos polímeros, identificadas como $Qt\alpha$ -PVP-1 y $Qt\beta$ -PVP-1, se pudo confirmar que a un tiempo corto de exposición al UV (5 min), no hubo reproducibilidad de los datos. Este comportamiento se podría asociar con una baja estabilidad de la película del bioadhesivo sobre el soporte, lo cual sugiere que no se ha alcanzado la reacción de injerto rápidamente a esta concentración evaluada de sólo 1% p/v de quitosano. La Tabla 17 y la Figura 68, presentan los resultados obtenidos.

Luego de 10 min de irradiación, pudieron ser cuantificadas estas fuerzas de adhesión para ambas mezclas, encontrándose resultados muy similares de 78 gf/cm para $Qt\alpha$ -PVP-1 y 77gf/cm para la mezcla $Qt\beta$ -PVP-1. Al alcanzar 15 min de exposición, se lograron obtener los valores más altos de adhesión en la interfase del bioadhesivo funcionalizado sobre el soporte de alfa celulosa. En este caso, el valor de fuerza alcanzado por $Qt\beta$ -PVP-1 fue de 125gf/cm, mientras que $Qt\alpha$ -PVP-1 presentó 110 gf/cm. Hasta este nivel de fotorreacción, las mezclas han podido reflejar un máximo contacto con el soporte, lo cual se presume que ocurre debido a interacciones del tipo puentes de hidrógeno entre los diversos grupos polares de los bioadhesivos funcionalizados y los múltiples grupos hidroxilos del soporte. Adicionalmente, las fuerzas de van der Waals fueron incrementadas debido al aumento de la masa molecular.

Al incrementar el tiempo de exposición a 20min y 25min, se pudo apreciar un cambio significativo en los resultados, debido a que descendieron para el caso de la mezcla $Qt\alpha$ -PVP-1 a 86 y 39 gf/cm respectivamente. Mientras que la mezcla con $Qt\beta$ -PVP-1 no mostró resultados reproducibles y cuantificables por la técnica de tracción. Estos hallazgos pueden suponer que el bioadhesivo funcionalizado alcanzó un máximo de resistencia a la irradiación UV empleada. Esto sugiere estar asociado con una ruptura de los enlaces glicosídicos de la estructura molecular del quitosano, los cuales podrían debilitarse por efecto de un prolongado tiempo de exposición. La Figura 69 presenta esta posible reacción de fotooxidación que se ha podido presentar a partir de los 20 min para la mezcla $Qt\beta$ -PVP-1, y de forma más lenta en la mezcla $Qt\alpha$ -PVP-1.

Adicionalmente, pudiera ser relevante considerar que la mezcla $Qt\alpha$ -PVP-1 resultó ser más resistente a la exposición a esta corta longitud de onda, debido a la característica semi-cristalina del polisacárido, ya que al ser más ordenado y rígido, podría ser capaz de ser más resistente a esta condición. El biopolímero puede ser funcionalizado sin degradarse significativamente. De hecho, se ha podido observar que a 15 min de irradiación, presentó resultados de fuerza adhesiva que superaron evaluaciones previas de quitosano α a concentraciones superiores (2% p/v). Por lo cual, se presume que la incorporación del PVP permitiría potenciar la fuerza de adhesión empleando menores concentraciones de este polisacárido.

En el caso del bioadhesivo $Qt\beta$ -PVP-1, la concentración de los mismos no fue suficiente para crear una película funcionalizada estable a tiempos de exposición superiores a 15min.

Tabla 17. Resultados de la fuerza de adhesión de los quitosanos α y β funcionalizados con PVP bajo fotoreacción UV, mezcla 1. Evaluación a diferentes tiempos de irradiación.

Tiempo de irradiación UV (min)	Fuerza de Adhesión promedio (gf/cm) $\pm 3\sigma^*$	
	$Qt\alpha$ -PVP-1	$Qt\beta$ -PVP-1
5	No estacionario	No estacionario
10	78 \pm 18	77 \pm 15
15	110 \pm 33	125 \pm 21
20	86 \pm 18	No estacionario
25	39 \pm 18	No estacionario

*datos provienen de análisis estadístico con software R aplicando el test Dickey-Fuller, y la regla de las tres desviaciones estándar en la cual el 99.7% de los datos se encuentran en una distribución normal.

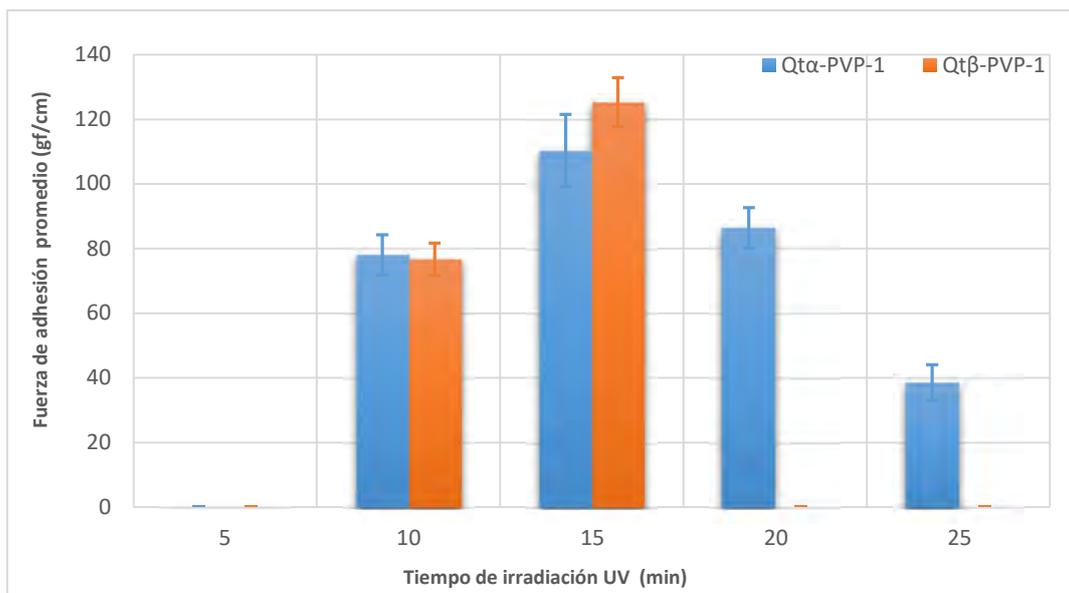


Figura 68. Representación gráfica del comportamiento de la fuerza de adhesión con el tiempo de irradiación UV para las mezclas **Qtα-PVP-1** y **Qtβ-PVP-1**

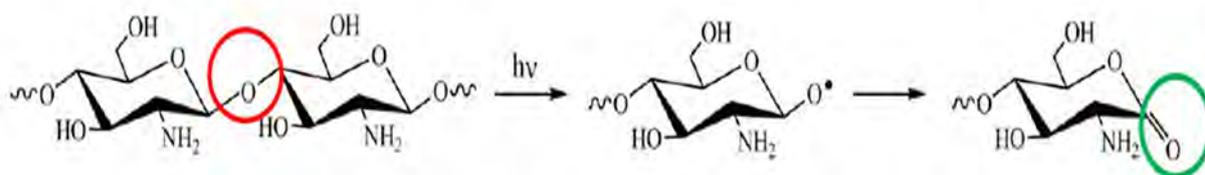


Figura 69. Posible ruptura del enlace glicosídico de la molécula de quitosano a partir de 20 min de irradiación UV.

Al incrementar la concentración de los quitosanos α y β al 2% p/v, representado por las muestras **Qtα-PVP-2** y **Qtβ-PVP-2**, se cuantificaron resultados de fuerza de adhesión en todos los períodos de tiempo de irradiación al UV, los cuales se presentan en la Tabla 18 y gráficamente en la Figura 70.

Los valores de fuerza adhesiva que han sido cuantificados, resultaron superiores en magnitud a los registrados para las mezclas a baja concentración de quitosano (1% p/v). Esto permite interpretar que al incrementar la concentración de ambos polímeros, se logra formar una película bioadhesiva más resistente a la irradiación, que además interactúa más fuertemente en la interfase con el soporte de celulosa. Una posible explicación a este hecho, se basa en que la reacción fotoquímica de injerto a la concentración más alta, requirió de menos tiempo de exposición al UV para formar los radicales libres reactivos que forman el enlace covalente de la unión intermolecular. Se pudo observar que a medida que se elevó el tiempo de permanencia en la cámara, se alcanzó un máximo grado de reacción entre estos polímeros, el cual ha sido de 15 min, coincidiendo con lo observado en las evaluaciones anteriores. Posteriormente, se

observa el descenso de estos valores, lo cual se asociaría nuevamente con una posible fotooxidación o ruptura de la molécula del quitosano.

Adicionalmente, se puede interpretar de estos resultados, que los valores cuantificados son bastante cercanos entre las mezclas con ambos polisacáridos. A diferencia de lo observado previamente, el quitosano β funcionalizado, incrementó su estabilidad ante la irradiación UV, lo cual se puede vincular con la presencia del polímero PVP.

El polímero de PVP podría favorecer la formación de una película bioadhesiva con una polaridad superior a la obtenida con los quitosanos puros, debido a que su estructura molecular posee átomos electronegativos. Esto a su vez, incrementaría las interacciones atractivas con los grupos hidroxilos del soporte de alfa celulosa. Adicionalmente, la presencia de la molécula PVP, también favorecería la resistencia a la fotooxidación principalmente en la molécula altamente amorfa de quitosano β .

Para ambos quitosanos, la presencia del polímero PVP en su estructura molecular, permitió incrementar su poder bioadhesivo, principalmente en las mezclas de mayor concentración de polímeros, por lo que sería posible modular esta propiedad considerando esta característica y controlando el tiempo de irradiación.

Tabla 18. Resultados de la fuerza de adhesión de los quitosanos α y β funcionalizados con PVP bajo fotoreacción UV, mezcla 2. Evaluación a diferentes tiempos de irradiación.

Tiempo de irradiación UV (min)	Fuerza de Adhesión promedio (gf/cm) $\pm 3\sigma^*$	
	Qt α -PVP-2	Qt β -PVP-2
5	124 \pm 36	119 \pm 27
10	125 \pm 33	125 \pm 42
15	132 \pm 30	149 \pm 39
20	131 \pm 27	130 \pm 33
25	107 \pm 39	118 \pm 27

*datos provienen de análisis estadístico con software R aplicando el test Dickey-Fuller, y la regla de las tres desviaciones estándar en la cual el 99.7% de los datos se encuentran en una distribución normal.

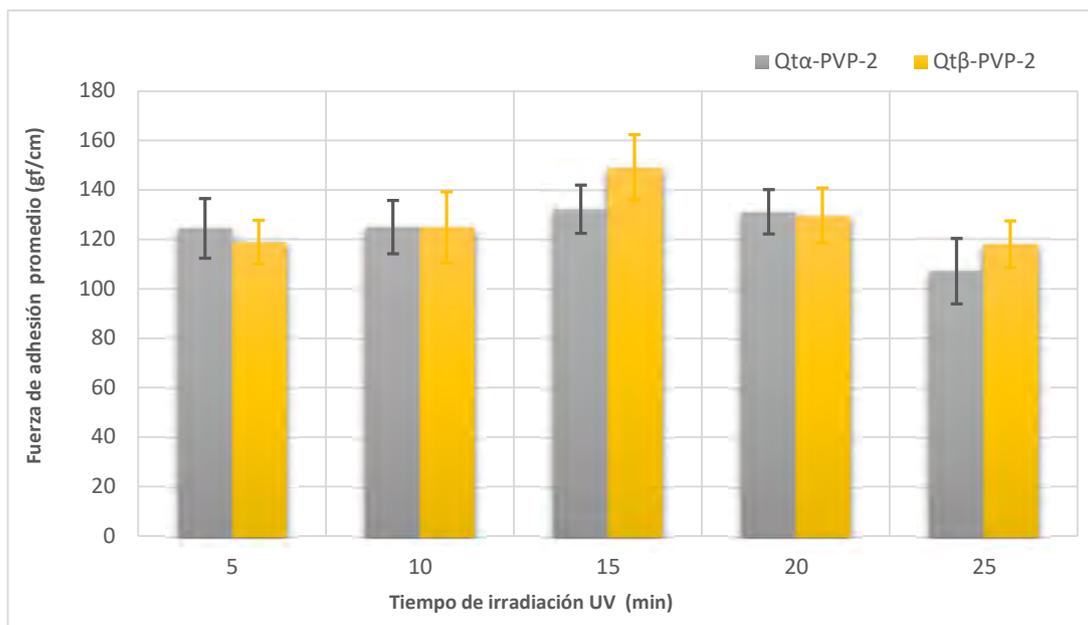


Figura 70. Representación gráfica del comportamiento de la fuerza de adhesión con el tiempo de irradiación UV para las mezclas **Qt α -PVP-2** y **Qt β -PVP-2**.

Como un experimento complementario y para confirmar la posible ruptura de la molécula de quitosano por fotooxidación, se procedió a exponer en la cámara UV por 15 min, las muestras tipo sándwich de los quitosanos puros al 2%*p/v*. Luego de este tiempo, se evaluaron las propiedades adhesivas por el método de tracción, observando resultados de 5gf/cm y 3 gf/cm para los quitosanos α y β respectivamente. Con estos resultados se podría concluir que efectivamente estos polisacáridos no resisten a esta irradiación debido a la ruptura de sus enlaces primarios.

Las representaciones gráficas de las Figuras 71 y 72, resumen el efecto observado al incrementar la concentración de los quitosanos α y β respectivamente, para llevar a cabo la fotorreacción tipo injerto con el PVP. La tendencia en ambos casos es a incrementar la fuerza de adhesión mientras se alcanza el máximo grado de reacción a los 15 min y posteriormente el descenso provocado por las posibles modificaciones moleculares que se presentan.

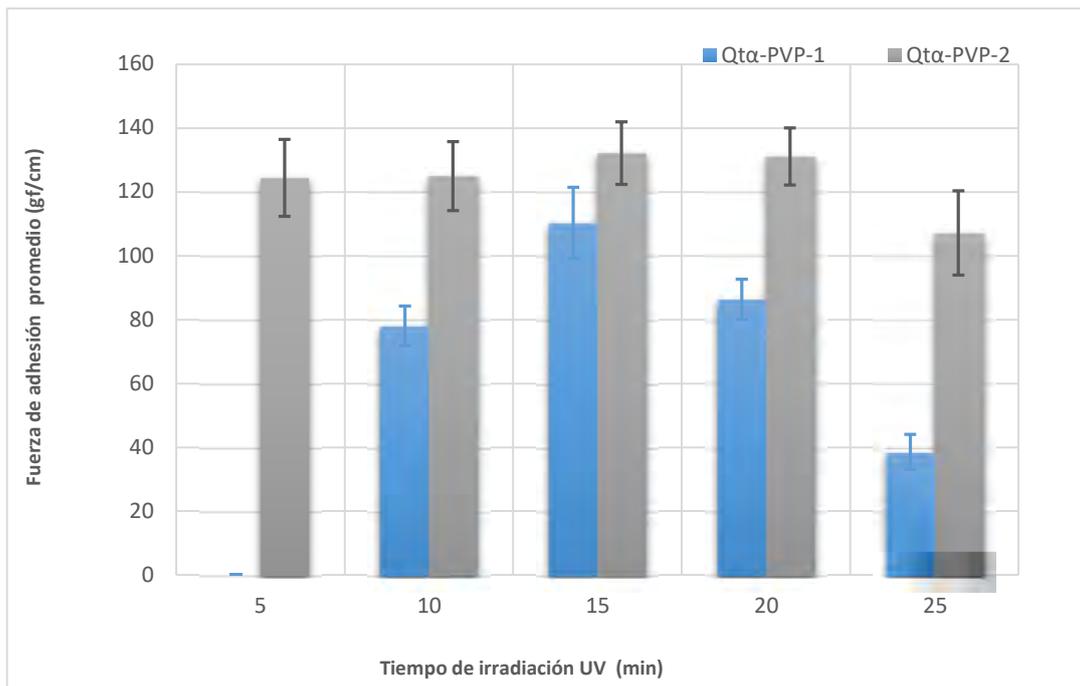


Figura 71. Representación gráfica comparativa del comportamiento de la fuerza de adhesión cuantificada para las mezclas **Qtα-PVP-1** y **Qtα-PVP-2**

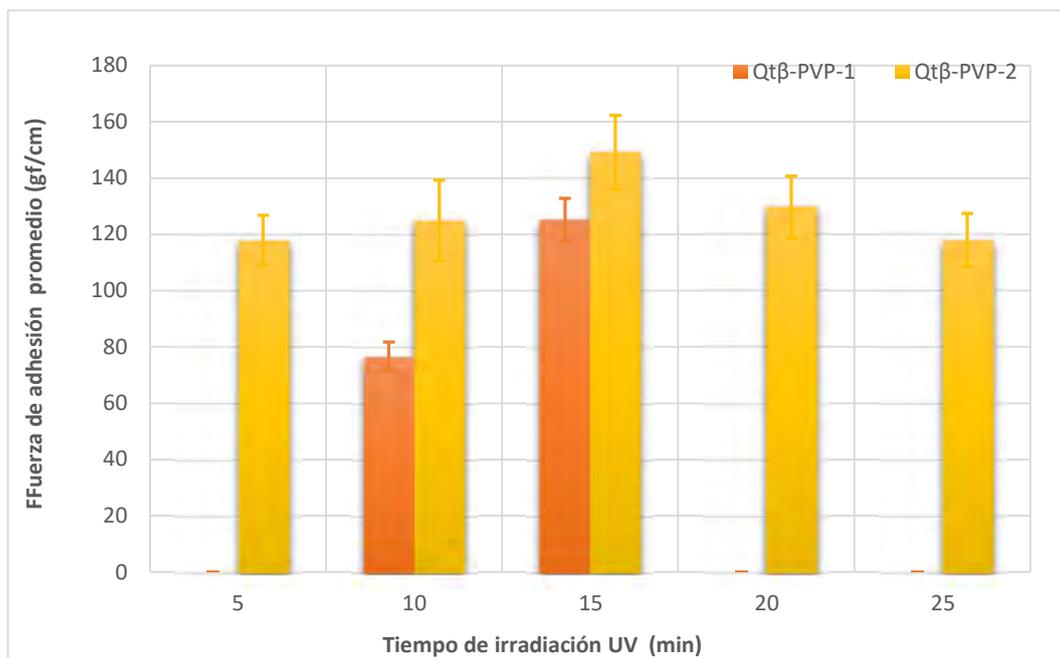


Figura 72. Representación gráfica comparativa del comportamiento de la fuerza de adhesión cuantificada para las mezclas **Qtβ-PVP-1** y **Qtβ-PVP-2**

Para confirmar la posible ruptura molecular del quitosano, se realizó el estudio bajo espectroscopía IR-TF sobre las muestras de $Q_{t\alpha}$ -PVP-2 y $Q_{t\beta}$ -PVP-2 luego de ser expuestas por 20 min al UV. Se seleccionaron estas muestras, debido a que ya se confirmó previamente que a partir de este tiempo se presentó un cambio en la propiedad adhesiva.

Los espectros IR-TF representados en la Figura 73, evidenciaron una disminución de las señales a 1149 cm^{-1} y 1060 cm^{-1} que corresponden a los enlaces glicosídicos del quitosano. Adicionalmente, las señales características del polímero PVP visibles a 2950 cm^{-1} y 1289 cm^{-1} permiten confirmar su presencia en la nueva molécula de injerto. El incremento en la banda de grupos carbonilos a 1652 cm^{-1} también puede asociarse con el nuevo grupo carbonilo formado en la posible estructura de equilibrio del radical libre de la molécula de quitosano, a consecuencia de su fotooxidación (Figura 69). Estos cambios en la huella dactilar de la macromolécula de injerto, permiten sugerir que sí ha tenido lugar un fraccionamiento molecular del polisacárido al prolongarse la exposición a la irradiación UV.

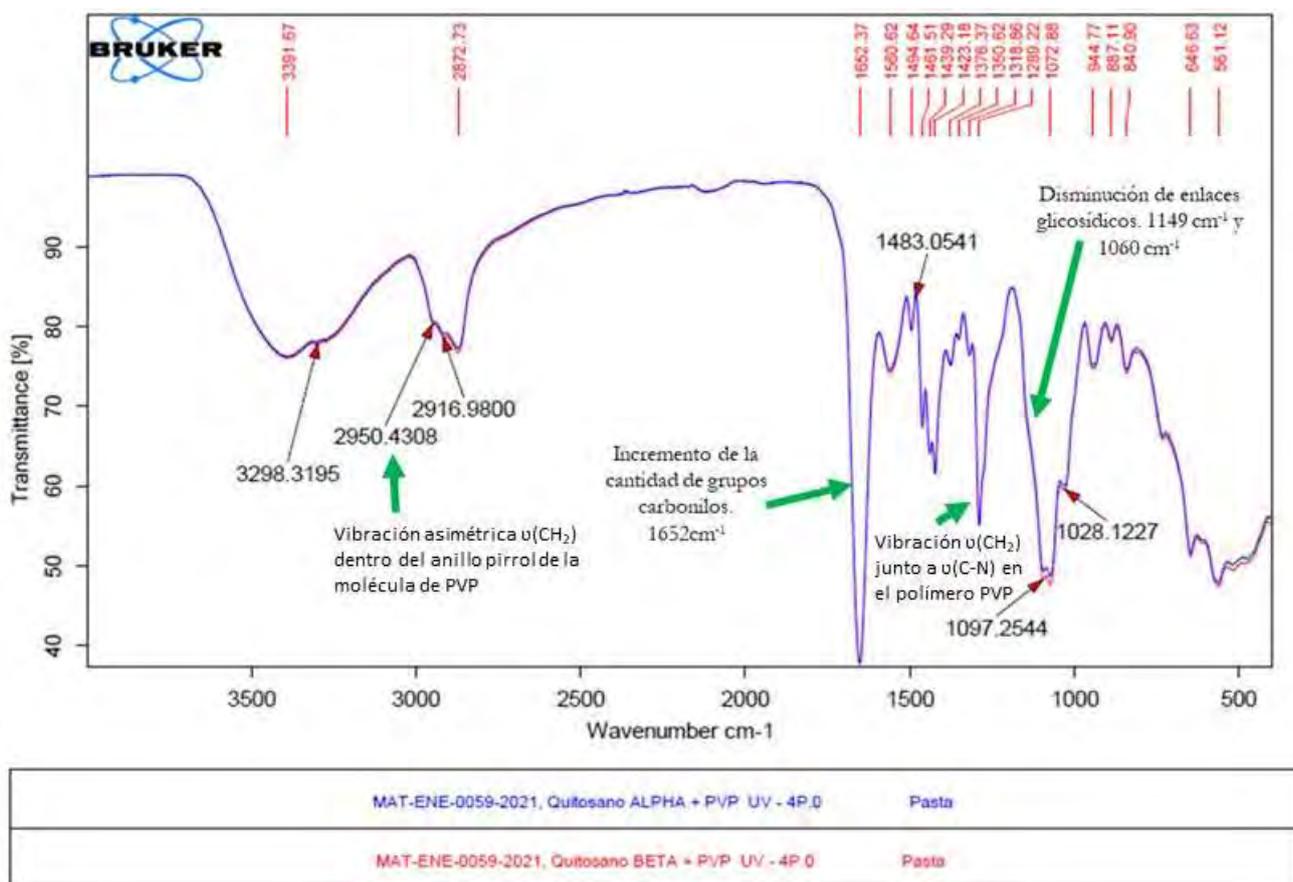


Figura 73. Comparación de espectros IR-TF de las mezclas $Q_{t\alpha}$ -PVP2 y $Q_{t\beta}$ -PVP2 después de la irradiación UV durante 20 min.

Evaluación de la humectabilidad a través del método del ángulo de contacto:

Para realizar este estudio se procedió a recubrir el soporte de alfa celulosa con las dos mezclas de quitosano-PVP evaluadas anteriormente. Las muestras sin laminar, fueron expuestas a la luz UV, considerando los mismos tiempos de irradiación desde 5 a 25min.

Empleando el microscopio óptico y su software HiView se determinaron la tangente correspondiente al ángulo de contacto de la gota de agua colocada sobre el film de cada bioadhesivo funcionalizado. Las mediciones fueron realizadas 5 veces sobre cada muestra y sus valores promedios se presentan en la Tabla 19 y se representan gráficamente en la Figura 74. Adicionalmente, las fotografías al microscopio se han reportado en el Apéndice.

Los resultados obtenidos presumen cambios en la humectabilidad de las películas a medida que se incrementó la exposición a la irradiación UV. Esto podría ser relacionado con una posible modificación de la energía superficial del recubrimiento, ocasionado por el incremento de su polaridad a medida que avanza la reacción fotoquímica de injerto. Como consecuencia de esto, la tendencia que se ha observado evidencia una disminución del ángulo de contacto al incrementarse la concentración de los polímeros. Por otro lado, al incrementar los tiempos de exposición a 20 y 25min, estos ángulos de contacto se incrementaron, lo cual podría relacionarse con una modificación en el equilibrio de las interacciones moleculares con la celulosa.

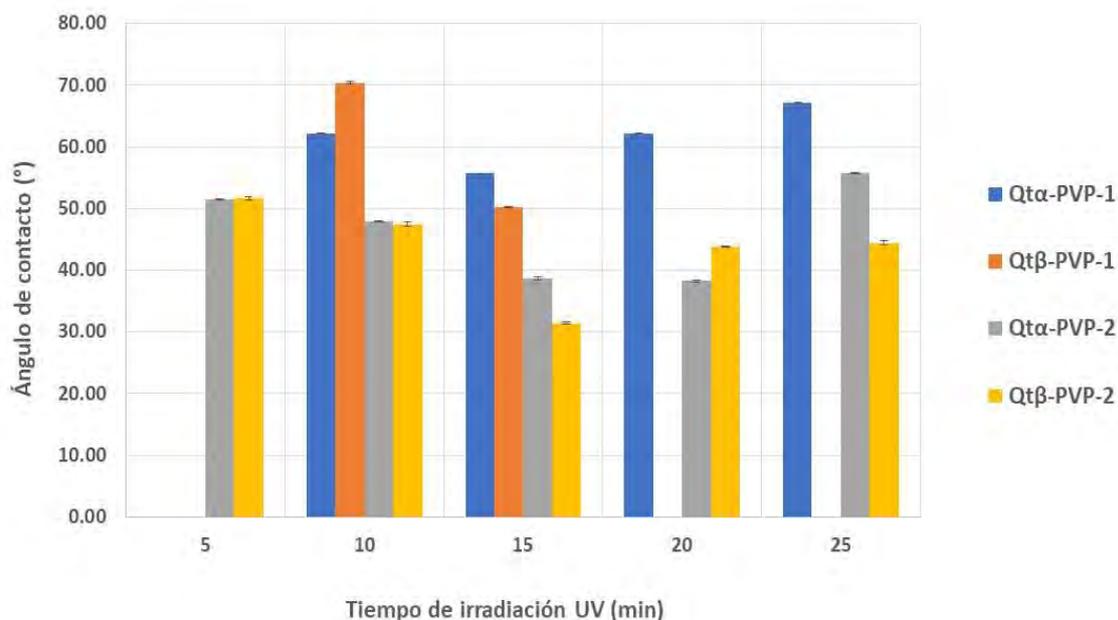


Figura 74. Variación del ángulo de contacto con el tiempo de irradiación UV.

Tabla 19. Resultados de la medición del ángulo de contacto a las mezclas recubiertas sobre el soporte de alfa celulosa (sin laminación). Secado a los diferentes tiempos de irradiación al UV.

Muestra	Tiempo de irradiación UV (min)	Ángulo de contacto promedio (°)	Desviación estándar
Qtα-PVP-1	5	.	.
	10	62.14	0.09
	15	55.74	0.06
	20	62.14	0.09
	25	67.17	0.06
Qtβ-PVP-1	5	.	.
	10	70.43	0.17
	15	50.21	0.07
	20	.	.
	25	.	.
Qtα-PVP-2	5	51.48	0.02
	10	47.90	0.04
	15	38.63	0.27
	20	38.25	0.18
	25	55.69	0.10
Qtβ-PVP-2	5	51.72	0.26
	10	47.45	0.32
	15	31.46	0.22
	20	43.90	0.08
	25	44.45	0.29

Resultados de la medición de la fuerza de adhesión de los quitosanos α y β funcionalizados con glutaraldehído bajo reacción de base de Schiff.

Una vez preparadas las mezclas entre las soluciones de ambos quitosanos y el glutaraldehído, se dejaron en reposo por 1 hora con la finalidad de observar y medir sus características físicoquímicas, las cuales se presentan en la Tabla 20.

Luego de este tiempo, se percibió un cambio en la coloración de las soluciones al incrementar la cantidad de glutaraldehído en la mezcla, de amarillo a ámbar oscuro.

Tabla 20. Caracterización de las soluciones quitosanos – Gt

Código de la muestra	Aspecto de la mezcla	pH final	Viscosidad (cP)**
Qt α -Gt-1	Líquido transparente amarillo oscuro - fluido	4.10	435
Qt α -Gt-2	Líquido transparente ámbar - viscoso	4.07	710
Qt α -Gt-3	Gel ámbar oscuro	4.14	nd
Qt β -Gt-1	Líquido transparente amarillo oscuro - fluido	4.11	360
Qt β -Gt-2	Líquido transparente ámbar - viscoso	4.10	615
Qt β -Gt-3	Gel ámbar oscuro	4.12	nd

Aspecto y pH: (25°C, 50.5% humedad relativa).

** Viscosidad Brookfield LVT – aguja 2 y 4, 30 rpm, 25°C

Esta primera observación, estuvo acompañada del incremento en la viscosidad y un cambio de estado de líquido a gel, lo cual resultó indicativo de la formación de la base de Schiff. Se pudo confirmar que las concentraciones más altas de glutaraldehído, correspondientes a las relaciones Gt/NH₂ de 0.16 y 0.24 para las mezclas 2 y 3 respectivamente, resultaron en un alto grado de reticulación, por lo que posiblemente el incremento en el peso molecular, ocasionó esta gelificación.

La presencia de geles, resultó inmanejable para la técnica de recubrimiento con barra Mayer. Específicamente para el quitosano α , esta gelificación se observó en mayor magnitud. Por este motivo, no se consideraron las mezclas 2 y 3, para las evaluaciones posteriores.

Las dos soluciones que fueron seleccionadas, corresponden a la más baja relación Gt/NH₂ = 0.08, es decir, con la más baja concentración de glutaraldehído, las cuales se identificaron como Qt α -Gt-1 y Qt β -Gt-1. Las Figuras 75 a, b y c, muestran fotografías en microscopio óptico a 10X de las películas de los quitosanos α y β puros, de aspecto transparente, y luego de reaccionar con Gt.

La reacción tipo base de Schiff involucra la amina primaria presente en el carbono C2 de la molécula del quitosano y los grupos carbonilos presentes en el glutaraldehído, como se representa en la Figura 76 a. La reacción comprende la formación y estabilización, del enlace imino -C=N-, lo cual ocurrió bajo un mecanismo de condensación en un medio acuoso ácido de pH alrededor de 4.1. Adicionalmente, el glutaraldehído puede sufrir autocondensación aldólica en el medio ácido, como se observa en la reacción química representada en la Figura 76 b, produciéndose una

estructura polimérica que al formarse ocasiona un cambio de coloración característico, el cual fue claramente percibido en las mezclas con ambos quitosanos (Figura 75 c). El mecanismo de formación de este subproducto bajo autocondensación, se explica detalladamente en la Figura 76 c, en el cual se producen dos nuevos sitios altamente reactivos, identificados en la estructura de la nueva molécula resultante.

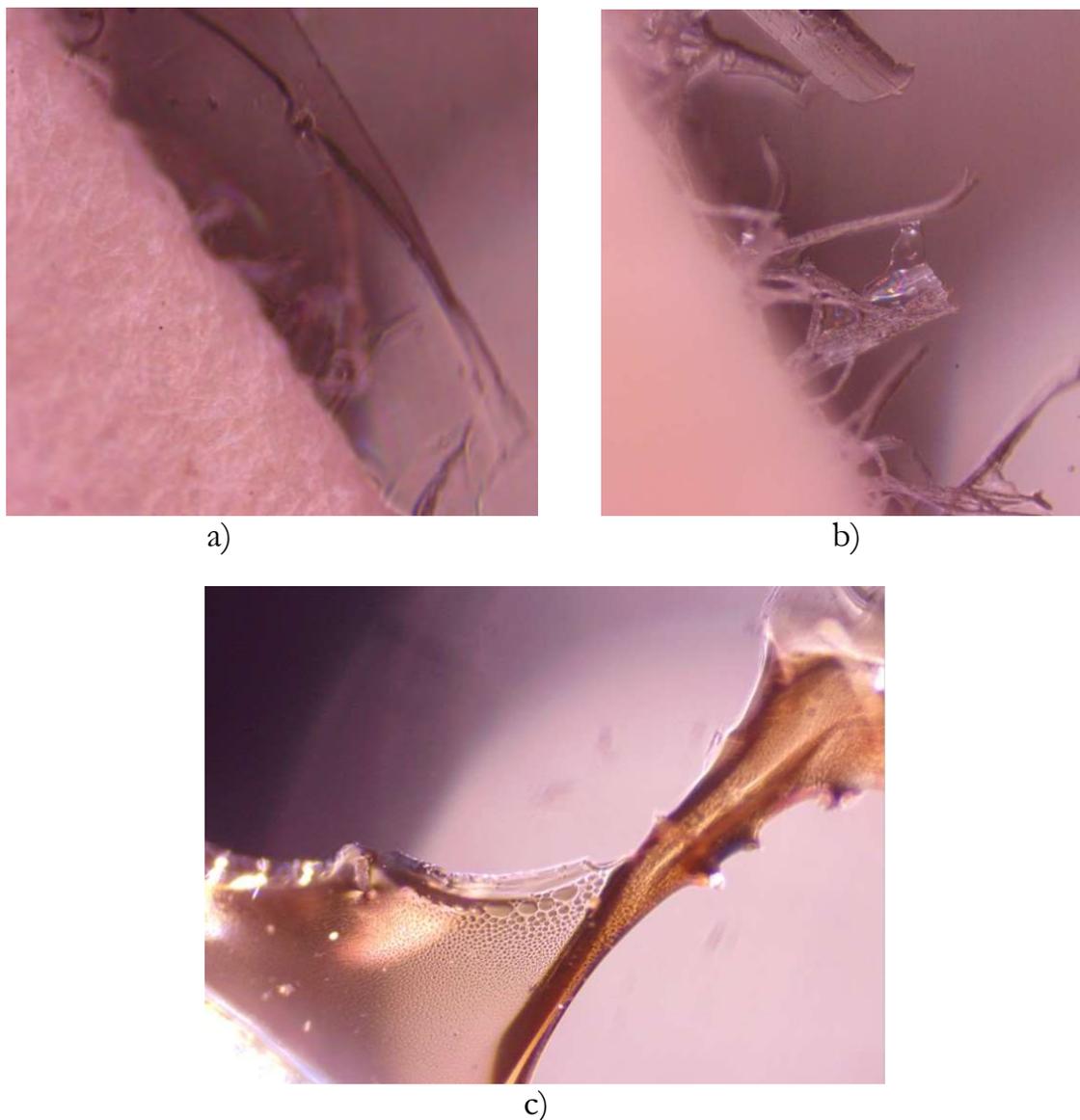


Figura 75. Aspecto de las películas de quitosano revestidas sobre el soporte de alfa celulosa. Películas secas, fotografiadas en microscopio óptico a 10X: a) quitosano α puro, b) quitosano β puro, c) película reticulada (cambia de coloración): $Qt\beta$ -Gt-1.

La Tabla 21 muestra el detalle de estas señales principales detectadas en los espectros IR-TF realizados sobre las soluciones acuosas que han sido funcionalizadas $Qt\alpha$ -Gt-1

y $Qt\beta$ -Gt-1. Por su parte, las Figuras 77 y 78, presentan los espectros comparativos con los quitosanos puros.

La señal más relevante de la base de Schiff, corresponde a la formación del enlace covalente representado por el grupo imino ($-C=N-$), la cual se localizó alrededor de 1636cm^{-1} para ambas muestras de $Qt\alpha$ -Gt-1 y $Qt\beta$ -Gt-1.

Adicionalmente se pudo apreciar la disminución de las señales correspondientes al grupo amino primario $-NH_2$ del quitosano, las cuales se desplazaron ligeramente hasta 1552cm^{-1} en los espectros de ambos quitosanos reticulados. Finalmente, la señal característica del grupo carbonilo de aldehído a 1720cm^{-1} tampoco fue observada, confirmando que no quedan moléculas de glutaraldehído libres sin reaccionar con el quitosano.

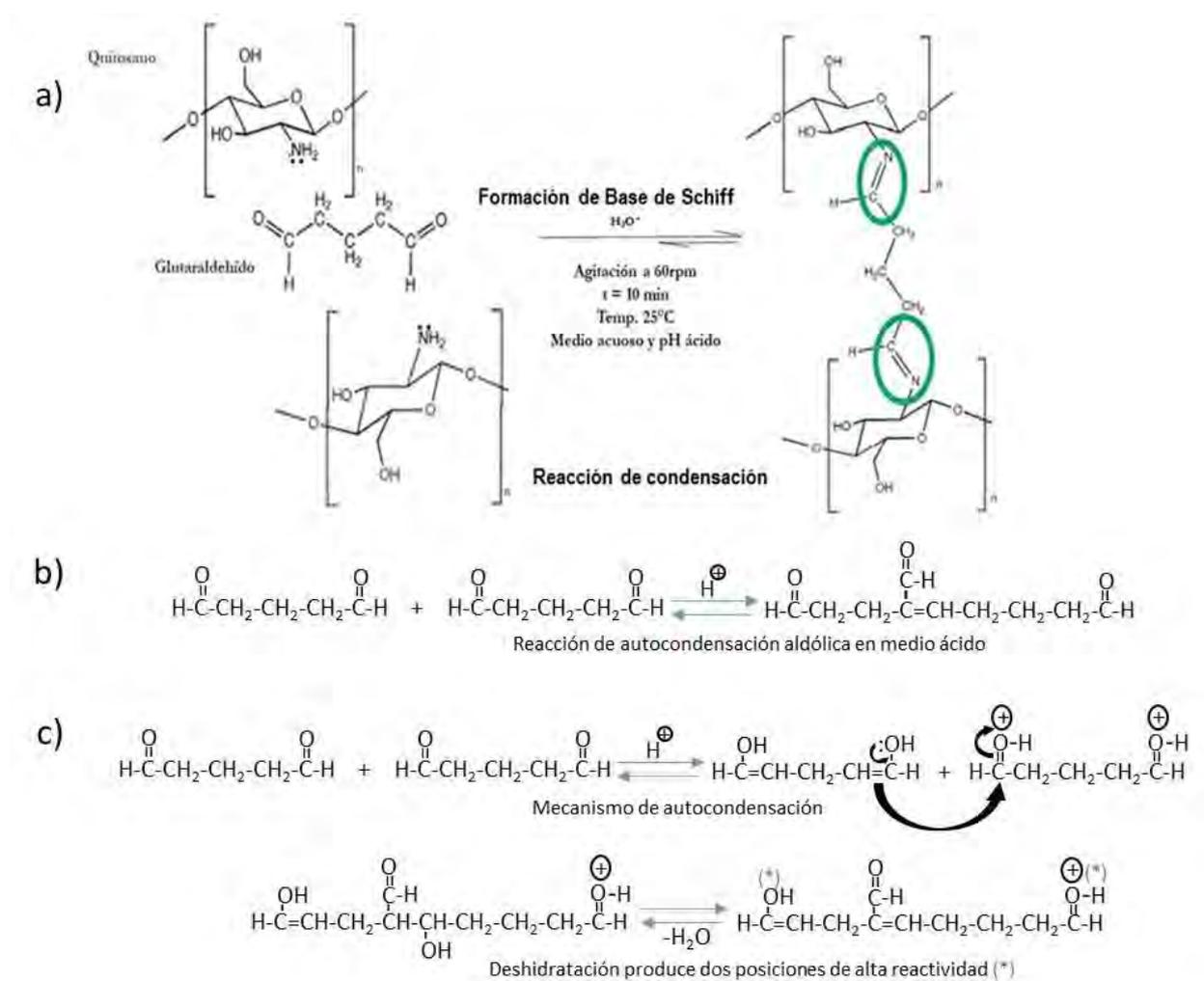


Figura 76. a) Reacción de formación de la base de Schiff, b) Reacción de autocondensación aldólica del glutaraldehído, c) Mecanismo de formación del polímero de glutaraldehído bajo autocondensación.

Tabla 21. Comparación de las señales en los espectros IR-TF de quitosanos reticulados con Gt: Muestras: Qt α -Gt-1 y Qt β -Gt-1.

Descripción de las señales en el espectro IR-TF	Qt α -Gt-1 (cm $^{-1}$)	Qt β -Gt-1 (cm $^{-1}$)
Estiramiento y vibración de la base conjugada de schiff o grupo imino -C=N-	1636.28	1636.54
2 ^{da} banda que confirma presencia de la base de Schiff: Disminución de grupos NH $_2$ libres	1552.16	1552.26

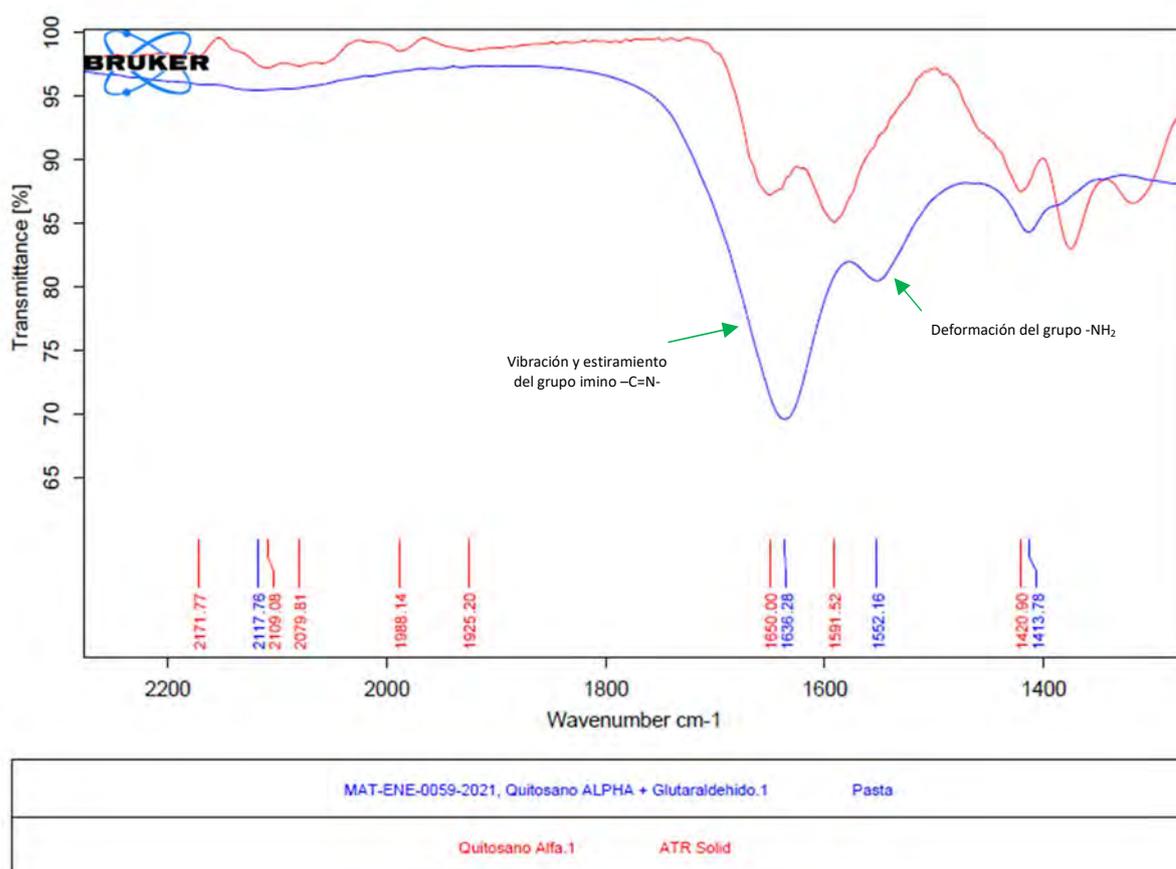


Figura 77. Espectros IR-TF del quitosano α puro (rojo) y reticulado Qt α -Gt-1 (azul). Ampliación entre 1200 -2500 cm $^{-1}$

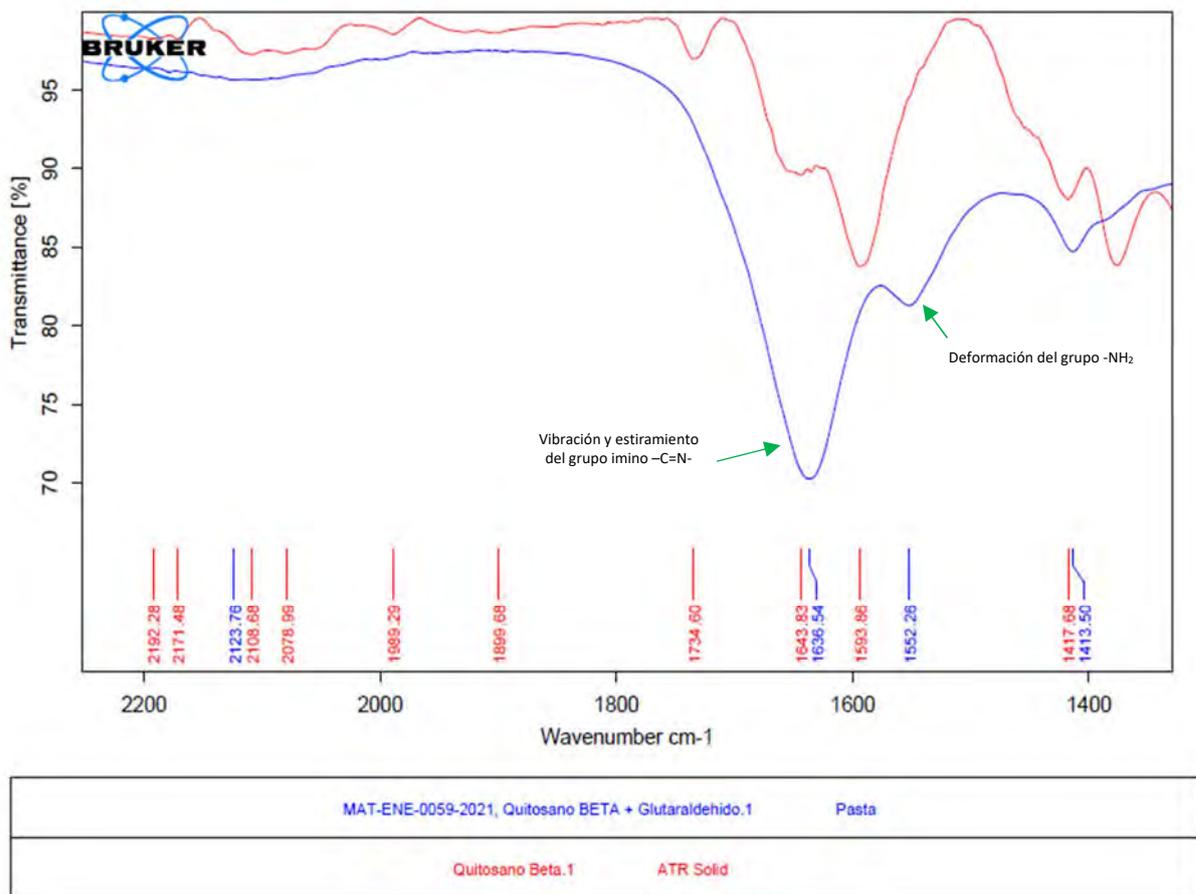


Figura 78. Espectros IR-TF del quitosano β puro (rojo) y reticulado Qt β -Gt-1 (azul). Ampliación entre 1200 -2500 cm^{-1}

Medición de la fuerza de adhesión: Aplicación del método de resistencia al pelado en conformación T.

Los experimentos realizados sobre las mezclas reticuladas quitosano-glutaraldehído, demostraron que la fuerza bioadhesiva en la interfase de unión con el soporte de alfa celulosa, se incrementó con respecto a lo observado para los polisacáridos puros.

La Tabla 22 resume los resultados de la fuerza adhesiva promedio (gf/cm) que ha sido detectada en la evaluación de los cuerpos de prueba empleando las mezclas Qt α -Gt1 y Qt β -Gt1. Se evidencia que los resultados obtenidos para las películas reticuladas con quitosano β , prácticamente han duplicado la fuerza por unidad de ancho obtenida con el quitosano α .

Tabla 22. Determinación de la fuerza bioadhesiva (gf/cm) de los adhesivos reticulados quitosano-glutaraldehído, revestido sobre soporte de alfa celulosa.

Fuerza de Adhesión promedio (gf/cm) $\pm 3\sigma^*$ mezclas quitosano-glutaraldehído	
Qtα-Gt1	Qtβ-Gt1
71 \pm 17	149 \pm 21
72 \pm 19	150 \pm 20
Promedio: 72 \pm 18	Promedio: 150 \pm 21

*datos provienen de análisis estadístico con software R aplicando el test Dickey-Fuller, y la regla de las tres desviaciones estándar en la cual el 99.7% de los datos se encuentran en una distribución normal.

Aunque este estudio fisicomecánico no permite diferenciar a nivel molecular entre las teorías de adhesión que dominan en la interfase de las películas revestidas y el soporte de alfa celulosa, podría considerarse eficaz para reflejar diferencias en el comportamiento bioadhesivo de ambos polisacáridos. Estas evidencias cuantificadas, posiblemente estén describiendo fuerzas de contacto intermolecular entre la nueva macromolécula quitosano-glutaraldehído, de un carácter polar superior, y los múltiples grupos hidroxilos presentes en el soporte de alfa celulosa. Esto se asocia con la formación de un nuevo enlace covalente -C=N-, que incrementa la polaridad de la macromolécula resultante con respecto a los isómeros de quitosanos puros.

Comparación del comportamiento bioadhesivo entre los quitosanos α , β y el almidón:

La preparación del adhesivo a base de almidón, se realizó siguiendo una conocida fórmula industrial, la cual requirió de dos fases de mezclado para la obtención de las características finales como aspecto y fluidez. En la primera fase, el almidón se sometió a calentamiento, debido a que este compuesto es insoluble en agua fría. En presencia de hidróxido de sodio, ocurrió la gelatinización de los gránulos del almidón, originado por la absorción de agua y la posible formación de enlaces intermoleculares que se manifestaron por el incremento de la viscosidad. La presencia de hidróxido de sodio en esta fase, contribuyó con la disolución de las moléculas de glucosa presentes en el almidón, y además en mantener estable la temperatura de gelatinización.

Por otro lado, el tetraborato de sodio decahidratado se empleó para la preparación de la fase de suspensión, debido a que su función es incrementar el poder adhesivo de la formulación, brindando pegajosidad. Se presume que esta sal favorece la hidratación rápida del almidón, así como permite mantener la fluidez del adhesivo de manera de que al mezclarlo con la primera fase se facilita su revestimiento en caliente. Este

comportamiento del tetraborato de sodio posiblemente se relacione con que las sales de borato de sodio tienen la propiedad de actuar como un aditivo de reticulación del almidón, formando enlaces covalentes que podrían estabilizar su viscosidad.

La Tabla 23 muestra los resultados de la caracterización fisicoquímica del adhesivo preparado, el cual fue evaluado a 60°C en un estado fluido. El adhesivo se dejó en un baño termostático para mantener controlada esta temperatura en el proceso de evaluación y revestimiento.

Tabla 23. Caracterización del adhesivo a base de almidón de maíz:

Muestra	Aspecto	pH (Adimensional)	Viscosidad (cP,60°C) **	Concentración (%) *
Adhesivo de almidón	Pasta opalescente	4.98	975	20.08

Aspecto y pH: (60°C, 50.5% humedad relativa).

*.Determinado como Materia Sólida por termobalanza Ohaus, 105°C, 1g, secado automático.

** Viscosidad Brookfield LVT – aguja 4, 60 rpm, 60°C.

Para conocer el desempeño bioadhesivo del almidón sobre el soporte de alfa celulosa, se realizó el revestimiento bajo la metodología de la barra Mayer 10, y posteriormente se evaluó su fuerza de adhesión bajo el método de tracción en conformación T. Los resultados finales se resumen en la Tabla 24. Adicionalmente, la Tabla 25 presenta la comparación de los resultados obtenidos para el almidón y los ya reportados para los quitosanos α , β puros y funcionalizados con PVP y glutaraldehído.

Tabla 24. Determinación de la fuerza bioadhesiva (gf/cm) del adhesivo de almidón, revestido sobre soporte de alfa celulosa.

Fuerza de adhesión promedio (gf/cm) $\pm 3\sigma^*$ Adhesivo de almidón	
Muestra 1	Muestra 2
55 \pm 14	55 \pm 15
Promedio: 55 \pm 15	

*datos provienen de análisis estadístico con software R aplicando el test Dickey-Fuller, y la regla de las tres desviaciones estándar en la cual el 99.7% de los datos se encuentran en una distribución normal.

Se puede observar que el resultado de fuerza de adhesión para este compuesto, resultó en 55gf/cm. El carácter bioadhesivo cuantificado, posiblemente se asocia a la presencia de numerosos grupos hidroxilos libres en las unidades de la amilosa. Por lo tanto, se podría interpretar que estos grupos estarían interactuando con grupos funcionales similares presentes en la molécula de alfa celulosa, formando fuertes enlaces tipo puentes de hidrógeno.

Al comparar los resultados de la fuerza de adhesión para todos los bioadhesivos evaluados, se puede apreciar que el almidón y el quitosano α presentan numéricamente el mismo resultado, aun cuando sus estructuras moleculares son significativamente diferentes. Adicionalmente, el quitosano α fue estudiado a una concentración baja del 2% p/v, mientras que el almidón requirió 10 veces más concentración, es decir 20% p/v para alcanzar la misma fuerza. Los resultados podrían interpretarse relacionándolos en primer lugar con la diferencia espacial entre los enlaces α 1,4 presentes en el almidón, con respecto a los enlaces β 1,4 de la celulosa. Este hecho posiblemente interfiera con la formación de nuevos enlaces tipo puentes de hidrógeno, los cuales a su vez favorecerían las fuerzas de adhesión. Adicionalmente, dada la presencia de una alta fracción de amilopectina (molécula ramificada) en el almidón, podría presentarse un impedimento estérico que no permita el libre movimiento e interacción molecular con los grupos hidroxilos de la celulosa.

Por otra parte, la molécula de quitosano α , en principio no presenta este efecto estérico y además comparte la disposición espacial β 1,4 de la celulosa, lo que debe estar promoviendo una interacción química más eficaz con el soporte, aun a baja concentración.

Finalmente el quitosano β , demostró que puede tener interacciones más fuertes con los grupos polares de la alfa celulosa lo cual posiblemente tambien se relacione con que su estructura molecular tiene mas libertad de rotación y carece de un estructura más rígida como ya se demostró para la conformación α .

Tabla 25. Comparación de la fuerza bioadhesiva (gf/cm) del adhesivo de almidón, con los bioadhesivos de quitosanos puros y funcionalizados.

Fuerza de Adhesión promedio (gf/cm) $\pm 3\sigma^*$ quitosanos puros y funcionalizados**, con respecto al almidón	
Bioadhesivo	Resultado
Quitosano α puro	55 \pm 19
Quitosano β puro	105 \pm 21
Qt α -PVP 1 (15 min UV)	110 \pm 33
Qt β -PVP 1 (15 min UV)	125 \pm 21
Qt α -PVP 2 (15 min UV)	132 \pm 30
Qt β -PVP 2 (15 min UV)	149 \pm 39
Qt α -Gt1	72 \pm 18
Qt β -Gt1	150 \pm 21
Almidón	55 \pm 15

*datos provienen de análisis estadístico con software R aplicando el test Dickey-Fuller, y la regla de las tres desviaciones estándar en la cual el 99.7% de los datos se encuentran en una distribución normal.

** Se consideran los resultados a 15 min de exposición UV para ambas mezclas con PVP.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

- 1.- Durante el almacenamiento de las soluciones de quitosanos α y β por 7 semanas, se observó un descenso significativo de la viscosidad calculándose en un 54% de disminución para el quitosano α con respecto a un 47% para el quitosano β .
- 2.- La técnica IR-TF resultó un método eficaz para calcular el grado de desacetilación de las moléculas de quitosano. Se demostró experimentalmente que se trata de un procedimiento aplicable para ambos isómeros α y β .
- 3.- A través de la técnica DRX, se obtuvieron los patrones de difracción de los quitosanos α , β y el soporte de alfa celulosa, revelándose que las tres moléculas presentan un alto grado de componente amorfo. Se resalta que este análisis fue cualitativo y se concluye que el quitosano β es el polisacárido con menor orden en su estructura molecular, mientras que la alfa celulosa resultó ser el polímero más semi-cristalino y ordenado.
- 4.- Las mediciones de fuerza de adhesión empleando el microscopio de fuerza atómica, demostraron que existe una gran diferencia entre ambos polisacáridos, encontrándose que el quitosano β superó al quitosano α en 81.6%. La técnica también permitió evidenciar de forma cualitativa que la película de quitosano β es también la menos rígida, lo que además se confirmó con el mapa topográfico en 3D.
- 5.- A través de la funcionalización vía fotorreacción UV tipo injerto, se lograron obtener películas bioadhesivas de quitosano-PVP con una elevada polaridad asociada a la incorporación de nuevos grupos funcionales de alta electronegatividad. Esto se reflejó en la cuantificación de las fuerzas adhesivas a medida que se incrementó el tiempo de irradiación UV. Debido al incremento de la concentración de PVP, se lograron obtener recubrimientos más resistentes a esta irradiación, pero además se evidenció que son estables por un tiempo máximo de 15 min. Luego de este tiempo, se presentaría una fotooxidación del polisacárido afectándose la unión adhesiva y las interacciones en la interfase con el soporte de celulosa.
- 6.- La fuerza de adhesión de los polisacáridos puros comparados con los reticulados con Gt, se incrementó en un 24% con respecto al quitosano α puro y en 29% con respecto al quitosano β puro.
- 7.- Los resultados de la medición de la fuerza de adhesión para el adhesivo a base de almidón, resultaron ser similares a los obtenidos para el quitosano α puro, y aproximadamente un 50% menor a los resultados obtenidos para el quitosano β puro.

8.- El quitosano β por su parte, se destacó como el biopolímero de mayor fuerza de adhesión tanto puro como funcionalizado bajo las dos reacciones de derivatización evaluadas, tipo injerto y reticulación. Se demostró, que éste al incrementar la adhesión, también incrementa la humectabilidad sobre el soporte de alfa celulosa y favorece las interacciones en la interfase de la unión adhesiva.

9.- Hasta el momento, resulta novedoso que este trabajo de investigación doctoral, presente resultados comparativos bien diferenciados, entre las moléculas de quitosanos α y β que provienen de diferentes fuentes. Sus características principales como el grado de desacetilación y peso molecular, presentan valores cercanos que pueden ser comparables, considerando que se trata de biopolímeros naturales y no sintéticos. Sin embargo, sus resultados como bioadhesivos puros y funcionalizados, han diferenciado de forma relevante estas propiedades, atribuidas a la diferencia en su cristalinidad y formación de puentes de hidrógeno intermoleculares. El impacto directo sobre la reactividad de ambos polimorfos es consecuencia de ambas características estructurales. La existencia de la correlación entre la estructura y propiedad sigue siendo un desafío en el campo de este biomaterial.

CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1.- Moussian, B. (2019). Chitin: Structure, Chemistry and Biology. In: Yang, Q., Fukamizo, T. (eds) Targeting Chitin-containing Organisms. Advances in Experimental Medicine and Biology, 1142. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-7318-3_2

2.- Abdou, E; Nagy, K; Elsabee, M. (2008). Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource Technology*, 99, 1359-1367. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.051>

3.- Younes, I; Rinaudo, M. (2015). Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. *Marine Drugs*, 13, 1133-1174. <https://doi.org/10.3390/md13031133>

4.- Harmsen, R. A. G., Tuveng, T. R., Antonsen, S. G., Eijsink, V. G. H., & Sørli, M. (2019). Can we make Chitosan by Enzymatic Deacetylation of Chitin? *Molecules*, 24(21), 3862. <https://doi:10.3390/molecules24213862>

5.- Patel, A. K., Michaud, P., Petit, E., de Baynast, H., Grédiac, M., & Mathias, J.-D. (2012). Development of a chitosan-based adhesive. Application to wood bonding. *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 127(6), 5014–5021. <https://doi:10.1002/app.38097>

- 6.- Merzendorfer, H. (2003). Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. *Journal of Experimental Biology*, 206 (24), 4393–4412. <https://doi:10.1242/jeb.00709>
- 7.- Chen, X., Yuk, H., Wu, J., Nabzdyk, C. S., & Zhao, X. (2020). Instant tough bioadhesive with triggerable benign detachment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(27), 15497–15503. <https://doi:10.1073/pnas.2006389117>
- 8.- Velazco, G., Gonzalez, A., & Ortiz, R. (2012). Apósitos de quitosano para el tratamiento de pie diabético. *Avances en Biomedicina*, 1(1), 38-41. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=331328086007>
- 9.- Sharifianjazi, F., Khaksar, S., Esmaeilkhanian, A., Bazli, L., Eskandarinezhad, S., Salahshour, P., Sadeghi, F., Rostamnia, S., & Vahdat, S.M. (2022). Advancements in Fabrication and Application of Chitosan Composites in Implants and Dentistry: A Review. *Biomolecules*, 12, 155. <https://doi.org/10.3390/biom12020155>
- 10.- Lárez, C. (2008). Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. *Revista UDO Agrícola* 8 (1), 1-22 <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3094823.pdf>
- 11.- Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., & Jeon, Y.-J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology*, 10(2), 37–51. [http://dx.doi.org/10.1016/s0924-2244\(99\)00017-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0924-2244(99)00017-5)
- 12.- Kurita, K. (2001). Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. *Progress in Polymer Science*, 26(9), 1921–1971. [http://dx.doi.org/10.1016/s0079-6700\(01\)00007-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0079-6700(01)00007-7).
- 13.- https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/bioadhesive-market-16386893.html?gclid=Cj0KCQjw29CRBhCUARIsAOboZbJw1tw2i71zHnlCQJz8T5OaQPYiOPhFySKREve T-w9XN4U7AeV M4aAuAMEALw_wcB.
- 14.- <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/chitosan-market-202177578.html>
- 15.- <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/global-chitosan-market>
- 16.- Bae, S. K., Sung, T. H., & Kim, J. D. (2002). A soft-tissue gelatin bioadhesive reinforced with a proteinoid. *Journal of adhesion science and technology*, 16 (4), 361-372. <https://doi.org/10.1163/156856102760067163>

- 17.- Umemura, K., Inoe, A., & Kawai, S. (2003). Development of new natural polymer-based wood adhesives I: dry bond strength and water resistance of konjac glucomannan, chitosan, and their composites. *J Wood Sci*, 49, 221-226 <http://dx.doi.org/10.1007/s10086-002-0468-8>
- 18.- Sionkowska, A., Wisniewski, M., Skopinska, J., Vicini, S., & Marsano, E. (2005). The influence of UV irradiation on the mechanical properties of chitosan/poly (vinyl pyrrolidone) blends. *Polymer degradation and stability*, 88(2), 261-267. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2004.08.018>
- 19.- Fernandes, S., Freire, C., Silvestre, A., Desbrieres, J., Gandini, A., & Neto, C. (2010). Production of Coated Papers with Improved Properties by Using a Water-Soluble Chitosan Derivative. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 49, 6432-6438. <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/ie100573z#>
- 20.- Ji, X., Li, B., Yuan, B., & Guo, M. (2017). Preparation and characterizations of a chitosan-based medium-density fiberboard adhesive with high bonding strength and water resistance. *Carbohydrate Polymers*, 176, 273-280. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.08.100>
- 21.- Poonguzhali, R., Basha, S.K. & Kumari, V.S. (2017). Synthesis and characterization of chitosan/poly (vinylpyrrolidone) biocomposite for biomedical application. *Polym. Bull.* 74, 2185-2201. <https://doi.org/10.1007/s00289-016-1831-z>
- 22.- Awalekar, Y. J., Takalkar, A. S., & Shinde, S. S. (2018). Investigation of peel resistance of adhesives materials: A review. *Proceedings of Engineering and Technology Innovation*, 10, 19-28. <https://www.researchgate.net/publication/328980826>
- 23.- Martínez-Mejía, G., Vázquez-Torres, N. A., Castell-Rodríguez, A., del Río, J. M., Corea, M., & Jiménez-Juárez, R. (2019). Synthesis of new chitosan-glutaraldehyde scaffolds for tissue engineering using Schiff reactions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 579, 123658 <https://doi:10.1016/j.colsurfa.2019.123658>
- 24.- Bussiere, P.O., Gardette, J.L., Rapp, G., Masson, C., & Therias, S. (2021). New insights into the mechanism of photodegradation of chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 259, 117715. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117715>
- 25.- Gonzalez, M., Pereira-Rojas, J., Villanueva, I., Agüero, B., Silva, I., Velasquez, I. & Pereira, J. (2022). Preparation and characterization of cellulose fibers from *Meghatyrus maximus*: Applications in its chemical derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 296, 119918. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119918>

- 26.- Joshi, J., Homburg, S. V., & Ehrmann, A. (2022). Atomic Force Microscopy (MFA) on Biopolymers and Hydrogels for Biotechnological Applications Possibilities and Limits. *Polymers*, 14(6), 1267. <https://doi.org/10.3390/polym14061267>
- 27.- Moussian, B. (2019). *Targeting Chitin containing Organisms*. Qing Yang & Tamo Fukamizo, 1 edition. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-7318-3>
- 28.- Kurita, K. (2006). Chitin and Chitosan: Functional Biopolymers from Marine Crustaceans. *Marine Biotechnology*. 8, 203-226. <https://doi.org/10.1007/s10126-005-0097-5>
- 29.- Dutta, P., Ravikumar, M., & Dutta, J. (2002). Chitin and chitosan for versatile applications. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*. 42, 307-354. <https://doi.org/10.1081/MC-120006451>
- 30.- Meyer, K., & Pankow, G. (1935). Sur la constitution et la structure de la chitine. *Helvetica*, 18, 589-598. <https://doi.org/10.1002/hlca.19350180177>
- 31.- Minke, R., & Blackwell, J. (1978). The Structure of α Chitin. *Journal of Molecular Biology*, 120, 167-181. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(78\)90063-3](https://doi.org/10.1016/0022-2836(78)90063-3)
- 32.- Cuong, H.N., Minh, N.C., Van Hoa, N., & Trung, T.S. (2016). Preparation and characterization of high purity β -chitin from squid pens (*Loligo chensis*). *International Journal of Biological Macromolecules*. 93, 442-447. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.085>
- 33.- Rudall, K. M. (1963). The Chitin/Protein Complexes of Insect Cuticles *Advances in Insect Physiology*. 1, 257-313. [https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(08\)60177-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(08)60177-0)
- 34.- Chen, X., & Yan, N. (2020). Conversion of Chitin to Nitrogen-containing Chemicals. *Chemical Catalysts for Biomass Upgrading*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 1 edition. <https://doi.org/10.1002/9783527814794.ch14>
- 35.- Subhpradha, N., Ramasamy, P., Shanmugam, V., Madeswaran, P., Srinivasan, A., & Shanmugam, A. (2013). Physicochemical characterisation of β -chitosan from *Sepioteuthis lessoniana gladius* *Food Chemistry*. 141, 907-913. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.098>
- 36.- Chaussard, G., & Domard, A. (2004). New Aspects of the Extraction of Chitin from Squid Pens. *Biomacromolecules*. 5, 559-564. <https://doi.org/10.1021/bm034401t>

- 37.- Bastiaens, L., Soetemans, L., D'Hondt, E., & Elst, K. (2020). *Chitin and Chitosan: Properties and Applications*, First Edition. John Wiley & Sons Ltd. 1edition. <https://doi.org/10.1002/9781119450467.ch1>
- 38.- Yadav, M., Goswami, P., Paritosh, K., Kumar, M., Pareek, N., & Vivekanand, V. (2019). Seafood waste: a source for preparation of commercially employable chitin/chitosan materials. *Bioresources and Bioprocessing*, 6, 1-20. <https://doi.org/10.1186/s40643-019-0243-y>
- 39.- Tolaimate, A., Desbrieres, J., Rhazi, M., & Alagui, A. (2003). Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polymer*, 44, 7939-7952. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2003.10.025>
- 40.- Zhao, Y., Park, R. D., & Muzzarelli, R. A. (2010). Chitin deacetylases: properties and applications. *Marine drugs*, 8(1), 24-46. <https://doi.org/10.3390/md8010024>
- 41.- Trombino, S., Sole, R., Di Gioia, M. L., Procopio, D., Curcio, F., & Cassano, R. (2023). Green Chemistry Principles for Nano-and Micro-Sized Hydrogel Synthesis. *Molecules*, 28(5), 2107. <https://doi.org/10.3390/molecules28052107>
- 42.- Rinaudo, M., Pavlov, G., & Desbrieres, J. (1999). Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. *Polymer*, 40(25), 7029-7032. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(99\)00056-7](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(99)00056-7)
- 43.- Percot, A., Viton, C., & Domard, A. (2003). Optimization of Chitin Extraction from Shrimp Shells. *Biomacromolecules*, 4, 12-18. <https://doi.org/10.1021/bm025602k>
- 44.- Kudre, T.G., Bhaskar, N., & Sakhare, P.Z. (2017). Optimization and characterization of biodiesel production from rohu (*Labeo rohita*) processing waste. *Renewable Energy*, 113, 1408-1418. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.06.101>
- 45.- Rinaudo, M. (2008). Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer International*, 57 (3), 397-430. <https://doi.org/10.1002/pi.2378>
- 46.- Abdou, E. S., Nagy, K. S. A., & Elsabee, M. Z. (2008). Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource Technology*, 99 (5), 1359-1367. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.051>
- 47.- Kumirska, J., Czerwicka, M., Kaczyński, Z., Bychowska, A., Brzozowski, K., Thöming, J., & Stepnowski, P. (2010). Application of Spectroscopic Methods for

Structural Analysis of Chitin and Chitosan. *Mar. Drugs*, 8, 1567-1636.
<https://doi.org/10.3390/md8051567>

48.- Pillai, C. K. S., Paul, W., & Sharma, C. P. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science*, 34 (7), 641-678.
<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001>

49.- Jampafuang, Y., Tongta, A., & Waiprib, Y. (2019). Impact of crystalline structural differences between α - and β -Chitosan on their nanoparticle formation via ionic gelation and superoxide radical scavenging activities. *Polymers*. 11, 2010.
<https://doi.org/10.3390/polym11122010>

50.- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog. Polym. Sci.* 31, 603-632. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>

51.- Hajji, S., Younes, I., Ghorbel-Bellaaj, O., Hajji, R., Rinaudo, M., Nasry, M., & jellouli, K. (2014). Structural differences between chitin and chitosan extracted from three different marine sources. *Int. J. Biol. Macromol.* 65, 298-306.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.01.045>

52.- Wang, Y., Zhang, N., Wang, Q., Yu, Y., & Wang, P. (2021). Chitosan grafting via one-enzyme double catalysis: An effective approach for improving performance of wool. *Carbohydrate Polymers*. 252, Article.117157.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117157>

53.- Zohuriaan-Mehr, M.J. (2005). Advances in Chitin and Chitosan Modification through Graft Copolymerization: A Comprehensive Review. *Iranian Polymer Journal*, 14, 235-265. <https://www.sid.ir/FileServer/JE/81320050306.pdf>

54.- Alves, N.M., & Manoa, J.F. (2008). Chitosan derivatives obtained by chemical modifications for biomedical and environmental applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 43, 401-414. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2008.09.007>

55.- Boeriu, C.G., & Van den Broek, L.A.M. (2019). Chemical and Enzymatic Modification of Chitosan to Produce New Functional Materials with Improved Properties. *Chitin and Chitosan: Properties and Applications*. Cap. 10
<https://doi.org/10.1002/9781119450467.ch10>

56.- Kurita, K., Kawata, M., Koyama, Y., & Nishimura, S-I. (1991). Graft copolymerization of vinyl monomers onto chitin with cerium (IV) ion. *Journal of Applied Polymer Science*, 42, 2885-2891. <https://doi.org/10.1002/app.1991.070421104>

- 57.- Hatton, F.L., Malmström, E., & Carlmark, A., (2015). Tailor-made copolymers for the adsorption to cellulosic surfaces, *European Polymer Journal*. 65, 335-339. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.01.026>
- 58.- O'Sullivan, A. C. (1997). Cellulose: the structure slowly unravels. *Cellulose*, 4(3), 173-207. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1018431705579>
- 59.- Gardner, K. H., & Blackwell, J. (1974). The structure of native cellulose. *Biopolymers*, 13(10), 1975-2001. <http://dx.doi.org/10.1002/bip.1974.360131005>
- 60.- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H-P., & Bohn, A. (2005). Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. *Polymer Science, Angew. Chem. Int.* 44, 3358-3393. <https://doi.org/10.1002/anie.200460587>
- 61.- Strnad, S., & Zemljič, L. F. (2023). Cellulose–Chitosan Functional Biocomposites. *Polymers*, 15(2), 425. <https://doi.org/10.3390/polym15020425>
- 62.- Azevedo, M., Pasa, V., Colodette, J., & Fontes, M. (2011). Effect of bleaching of cellulose pulp crystallinity of eucalyptus grandis and dunnii. 5th International Colloquium on Eucalyptus Pulp, May 9-11. Porto Seguro, Bahia, Brazil. https://www.eucalyptus.com.br/artigos/outros/40_Cellulose_Cristallinity_Bleaching.pdf
- 63.- Schackford, L. (2003). A Comparison of Pulping and Bleaching of Kraft Softwood and Eucalyptus Pulps. TAPPI Director. 36th International Pulp and Paper Congress and Exhibition. October 13-16, Sao Paulo, Brazil. <http://www.celsofoelkel.com.br/artigos/outros/A%20Comparison%20of%20Pulping%20and%20Bleaching%20of%20Kraft%20Softwood%20and%20Eucalyptus%20Pulps.pdf>
- 64.- Yokoyama, T., Kadla, J. F., & Chang, H. (2002). Microanalytical Method for the Characterization of Fiber Components and Morphology of Woody Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(5), 1040-1044. <https://doi.org/10.1021/jf011173q>
- 65.- Lemeune, S., Jameel, H., Chang, H-M., & Kadla, J.F. (2004). Effects of Ozone and Chlorine Dioxide on the Chemical Properties of Cellulose Fibers. *Journal of Applied Polymer Science*, 93, 1219-1223. <https://doi.org/10.1002/app.20509>
- 66.- Novy, V., Nielsen, F., Cullen, D., Sabat, G., Houtman, C. J., & Hunt, C. G. (2021). The characteristics of insoluble softwood substrates affect fungal morphology, secretome composition, and hydrolytic efficiency of enzymes produced by *Trichoderma reesei*. *Biotechnology for Biofuels*, 14(1). 105 <https://doi.org/10.1186/s13068-021-01955-5>

- 67.- Heinze, T., El Seoud, O. A., & Koschella, A. (2018). *Production and Characteristics of Cellulose from Different Sources. Springer Series on Polymer and Composite Materials*, 1–38. https://doi:10.1007/978-3-319-73168-1_1
- 68.- TAPPI T-203. (1999). Alpha-, beta- and gamma-cellulose in pulp. *Tappi Standard Methods*. <https://ipstesting.com/find-a-test/tappi-test-methods/tappi-t-203-alpha-beta-gamma-cellulose/>
- 69.- Monter-Miranda, J. G., Tirado-Gallegos, J. M., Zamudio-Flores, P. B., Rios-Velasco, C., Ornelas-Paz, J. D. J., Salgado-Delgado, R., & Hernández-Centeno, F. (2016). Extracción y caracterización de propiedades fisicoquímicas, morfológicas y estructurales de quitina y quitosano de *Brachystola magna* (Girard). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(3), 749-761. <https://www.redalyc.org/pdf/620/62048168007.pdf>
- 70.-Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycooleab, F.M., ArguÈelles-Monalc, M., DesbrieÁresa, J., & Rinaudo M. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer*, 42: 3569-3580. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00713-8](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00713-8)
- 71.- Ramírez, C.A., Delgado, E., & Andrade, J.A (2016). Determinación del grado de desacetilación de quitosana mediante titulación potenciométrica, IR-TF y Raman. *Journal CIM*. 4(1). <https://www.researchgate.net/publication/309493340>
- 72.- Pérez-Álvarez, L., Ruiz-Rubio, L., & Vilas-Vilela, J. L. (2018). Determining the Deacetylation Degree of Chitosan: Opportunities To Learn Instrumental Techniques. *Journal of Chemical Education*, 95(6), 1022-1028. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00902>
- 73.- Sionkowska, A., Wisniewskia, M., Skopinska, J., Vicini, S., & Marsano, E. (2004) The influence of UV irradiation on the mechanical properties of chitosan/poly(vinylpyrrolidone) blends. *Polymer Degradation and Stability*, 88, 261-267. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2004.08.018>
- 74.- Xu, X., Zhang, C., Zhou, Y., Cheng, Q.L.J., & Yao, K. (2007). Quartz Crystal Microbalance Study of Protein Adsorption on Chitosan, Chitosan/Poly(vinylpyrrolidone) Blends and Chitosan-graft-Poly(vinylpyrrolidone) Surfaces. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 22, 195. <https://doi.org/10.1177/0883911507076454>

- 75.- Marsano, E., Vicini, S., Skopinska, J., Wisniewski, M., & Sionkowska, A. (2004). Chitosan and Poly(vinyl pyrrolidone): Compatibility and Miscibility of Blends. *Macromol. Symp.* 218, 251-260. <https://doi.org/10.1002/masy.200451426>
- 76.- Decker, C. (1998). The use of UV irradiation in polymerization. *Polymer International*, 45(2), 133-141. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0126\(199802\)45:2<133::AID-PI969>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0126(199802)45:2<133::AID-PI969>3.0.CO;2-F)
- 77.- Decker, C. (2002). Light-induced crosslinking polymerization. *Polymer International*, 51(11), 1141-1150. <https://doi.org/10.1002/pi.821>
- 78.- Myshkin, N., & Kovalev, A. (2018). Adhesion and surface forces in polymer tribology-A review. *Friction*. 6, 143-155. <https://doi.org/10.1007/s40544-018-0203-0>
- 79.- Raheem, Z. (2019). Standard Test Method for Peel Resistance of Adhesives (T-Peel Test). *ASTM.D1876-08(2015)e1* 15(06) 3 <https://doi.org/10.1520/D1876-08R15E01>
- 80.- Mangipudi, V.S., & Falsafi, A. (2002). Chapter 2-Direct estimation of the adhesion of solid polymers. *Adhesion Science and Engineering*. 2, 75-138. <https://doi.org/10.1016/B978-044451140-9/50002-0>
- 81.- Ashter, S.A. (2014). Mechanics of Materials. *Thermoforming of Single and Multilayer Laminates*, 123–145. <http://doi.org/10.1016/B978-1-4557-3172-5.00006-2>
- 82.-Suksaeree, J. (2017). Mechanical Properties of Herbal Patches from Chitosan-Based Polymer Blends for Medical Applications. *Materials Science Forum*. 917, 52-56. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.917.52>
- 83.- Ma, y., Yao, J., Liu, Q., Han, T., Zhao, J., Ma, X., Tong, Y., Jin, G., Qu, K., Li, B., & Xu, F. (2020). Liquid Bandage Harvests Robust Adhesive, Hemostatic, and Antibacterial Performances as a First-Aid Tissue Adhesive. *Advance Functional Materials*. 30. <https://doi.org/10.1002/adfm.202001820>
- 84.- Wong, C.F., Yuen, K.H., & Peh, K.K. (1999). Formulation and evaluation of controlled release Eudragit buccal patches. *International Journal of Pharmaceutics* 178, 11-22 [https://doi.org/10.1016/s0378-5173\(98\)00342-1](https://doi.org/10.1016/s0378-5173(98)00342-1)
- 85.- Kinloch. A.J. (1982) Review The science of adhesion Part 2 Mechanics and mechanisms of failure. *Journal of materials science*. 17, 617-651. <https://doi.org/10.1007/bf00540361>

- 86.- Ojalvo, I. U., & Eidinoff, H. L. (1978). Bond Thickness Effects upon Stresses in Single-Lap Adhesive Joints. *AIAA Journal*, 16(3), 204–211. <https://doi.org/10.2514/3.60878>
- 87.- Allen, K.W. (2000). Formation and failure of adhesive bonds. *Surface Coatings International*. 83, 20-26. <https://doi.org/10.1007/BF02692683>
- 88.- Marshall, S. J., Bayne, S. C., Baier, R., Tomsia, A. P., & Marshall, G. W. (2010). A review of adhesion science. *Dental Materials*. 26(2), 11-16. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2009.11.157>
- 89.- Ebnesajjad, S (2011). Introduction and Adhesion Theories. *Handbook of Adhesives and Surface Preparation 2nd edition*. Elsevier Inc. 3-13 <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-4461-3.10001-X>
- 90.- Pizzi, A., & Mittal, K.L. (2003). Handbook of Adhesive Technology. Second Edition, Revised and Expanded. Capítulos 3,5,11. <https://doi.org/10.1201/9780203912225>
- 91.- Wake, W. C. (1978). Theories of adhesion and uses of adhesives: a review. *Polymer*, 19(3), 291-308. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(78\)90223-9](https://doi.org/10.1016/0032-3861(78)90223-9)
- 92.- Kildeeva, N.R., Perminov, P.A., Vladimirov, L.V., Novikov, V.V., & Mikhailov, S.N. (2009). About Mechanism of Chitosan Cross-Linking with Glutaraldehyde. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 35, 360-369. <https://doi.org/10.1134/S106816200903011x>
- 93.- Martínez-Mejía, G., Vázquez-Torres, N. A., Castell-Rodríguez, A., del Río, J. M., Corea, M., & Jiménez-Juárez, R. (2019). Synthesis of new chitosan-glutaraldehyde scaffolds for tissue engineering using Schiff reactions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 579, 123658. <https://doi:10.1016/j.colsurfa.2019.123658>
- 94.- Antony, R., Arun, T., & Manickam, S. T. D. (2019). A review on applications of chitosan-based Schiff bases. *International Journal of Biological Macromolecules*. 129, 615-633. <https://doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.02.047>
- 95.- Migneault, I., Dartiguenave, C., Bertrand, M.J., & Waldron, K.C. (2004). Glutaraldehyde: behavior in aqueous solution, reaction with proteins, and application to enzyme crosslinking. *BioTechniques*, 37(5), 790-802. <https://doi.org/10.2144/04375RV01>

- 96.-** Korn, A.H., Fearheller, S.H., & Filachione, E.M. (1972). Glutaraldehyde: Nature of the Reagent. *Journal of Molecular Biology*. 65, 525-529. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(72\)90206-9](https://doi.org/10.1016/0022-2836(72)90206-9)
- 97.-** Hardy, P.M., Nicholls, A.C., & Rydon, H.N. (1969). The Nature of Glutaraldehyde in Aqueous Solution. *Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications*. 565-566. <https://doi.org/10.1039/C29690000565>
- 98.-** Berger, J., Reist, M., Mayer, J.M., Felt, O., Peppas, N.A., & Gurny, R. (2004). Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 57, 19-34. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(03\)00161-9](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(03)00161-9)
- 99.-** Subramanian, A., & Lin, H-Y. (2005). Crosslinked chitosan: Its physical properties and the effects of matrix stiffness on chondrocyte cell morphology and proliferation. *Journal of Biomedical Materials Research*. 75A, 742-753. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30489>
- 100.-** Schiffman, J.D., & Schauer, C.L; (2007). Cross-Linking Chitosan Nanofibers. *Biomacromolecules*. 8, 594-601. <https://doi.org/10.1021/bm060804s>
- 101.-** Poon, L., Wilson, D., & Headley, J.V. (2014). Chitosan-glutaraldehyde copolymers and their sorption properties. *Carbohydrate Polymers*. 109, 92-101. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.086>
- 102.-** Pizzi, A., & Mittal, K.L. (2003). Handbook of Adhesive Technology. Second Edition, Revised and Expanded. Cap.3,5,11. <https://doi.org/10.1201/9780203912225>
- 103.-** Verdaguer, J.M., López, G. Agentes de resistencia en seco: almidón catiónico *Roquette laisa española, s.a., Unidad comercial almidones industriales.* <https://docplayer.es/37280599-Agentes-de-resistencia-en-seco-almidon-cationico.html>
- 104.-** French, D. (1973). Chemical and physical properties of starch. *Journal of Animal Science*, 37, 1048-1061. <https://doi.org/10.2527/jas1973.3741048x>
- 105.-** Porell. W. (2018) Informe de adhesivos avanzado. *Boletín informativo sobre corrugados de harperlove.* <https://www.harperlove.com/PDF/SpanishNewsAug18.pdf>
- 106.-** Lagus, M. (2019). Hydrophobic surface sizing of testliner. Thesis for: Master of Science (Technology). Abo Akademi University - Finland, 9-11. <https://www.researchgate.net/publication/334326749>

107.- Monteiro, O. A., & Airoidi, C. (1999). Some studies of crosslinking chitosan–glutaraldehyde interaction in a homogeneous system. *International Journal of Biological Macromolecules*, 26, 119–128. [https://doi.org/10.1016/s0141-8130\(99\)00068-9](https://doi.org/10.1016/s0141-8130(99)00068-9)

108.- Kaczmarek, H., Oldak, D., Malanowski, P., & Chaberska, H. (2005). Effect of short wavelength UV-irradiation on ageing of polypropylene/cellulose compositions. *Polymer Degradation and Stability*, 88(2), 189–198.
<https://doi:10.1016/j.polymdegradstab.2004.04.017>

109.- <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/solvent-based-adhesives-market-93817369.html>

110.- Saunders C.W & Taylor, L.T (1990) A review of the synthesis, chemistry and analysis of nitrocellulose. *Journal of Energetic Materials*, 8 (3), 149-203.
<https://doi:10.1080/07370659008012572>

CAPÍTULO VII. APÉNDICE

1.- Características reportadas por el proveedor del soporte de alfa celulosa.

NEENAH GESSNER

100% Long fibre pulp (NBSK, softwood)

Grammage lab sheets: 70 g/m²

LF-pulp is a ECF bleached northern softwood Kraft pulp.

Typical characteristics

Brightness, ISO 89+ %

Ash 0,2%

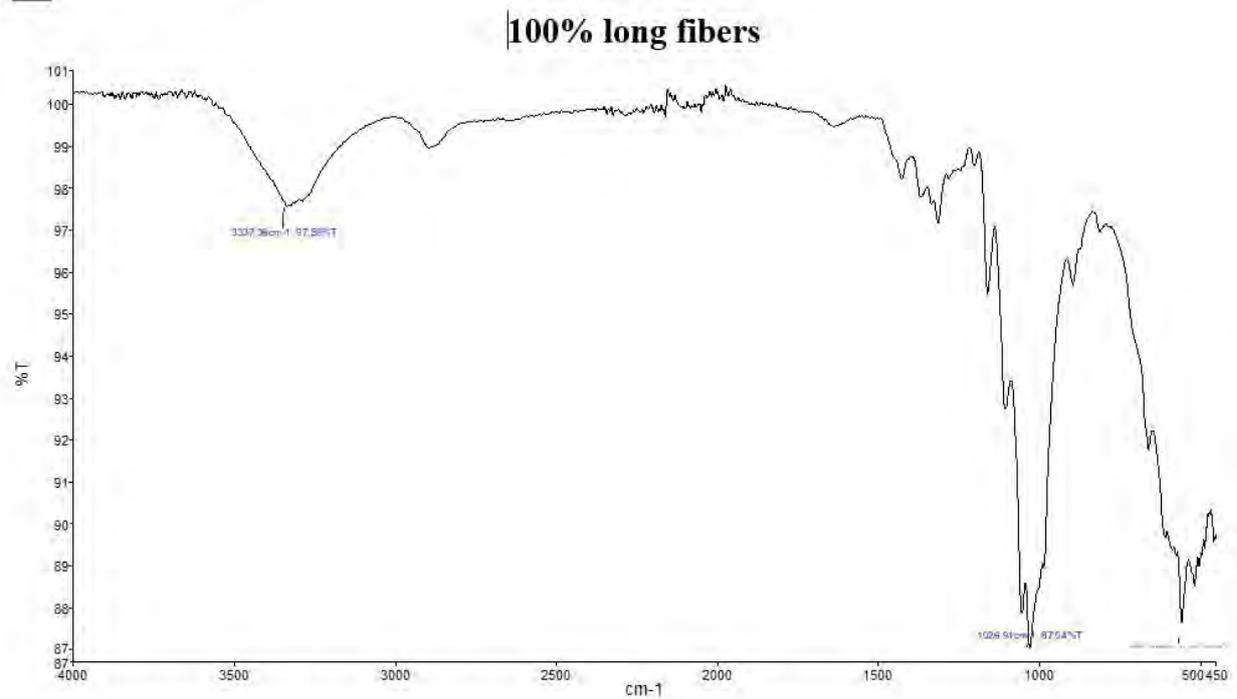
Wood species

68% Lodgepole Pine

34% Spruce

1% Interior Fir

NEENAH GESSNER



2.- Certificados de calidad de las muestras de quitosanos α y β comerciales.

Quitosano α : Lote 070 PMP

Glentham
LIFE SCIENCES

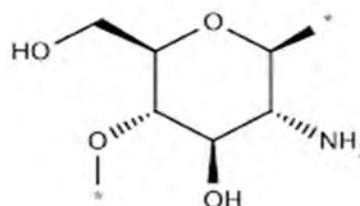
Glentham Life Sciences Ltd
Unit 5 Ingoldmells Court
Edinburgh Way
Corsham
Wiltshire, SN13 9XN
United Kingdom

t: +44 (0) 1225 667 798
f: +44 (0) 2033 978 909
e: info@glentham.com
w: www.glentham.com

Certificate of Analysis

Product Name : Chitosan (100 - 300 cps), low molecular weight
Glentham Code : GP7325
CAS Number : 9012-76-4
EINECS : 618-480-0
MDL Number : MFCD00161512
Batch Number : 070PMP

Molecular Weight : 890,000 (avg.)
Molecular Formula : $[C_6H_{11}NO_4]_n$
Storage Temp. : +20°C



Property	Specification	Batch 070PMP
Physical Description	White to light-tan powder	Conforms
Degree of Deacetylation	$\geq 90.0\%$	93.09%
Ash	$\leq 1.0\%$	0.75%
Viscosity	100 - 300 cps	141 cps
Water	$\leq 8.0\%$	2.74%
Solubility (in acetic acid)	$\geq 99\%$	Conforms
pH	6.0 - 8.0 (1%, 20°C)	7.00
Arsenic (As)	$\leq 1\text{mg/kg}$	Conforms
Lead (Pb)	$\leq 0.5\text{mg/kg}$	Conforms
Mercury (Hg)	$\leq 0.1\text{mg/kg}$	Conforms
Particle Size	≤ 100 mesh	Conforms
Microbiological Counts	E. coli: Absent	Conforms
	Salmonella spp.: Absent	Conforms
	Yeast and Moulds: ≤ 100 CFU/g	Conforms
	Total Plate Count: ≤ 1000 CFU/g	Conforms

Specification Version : v1.0
Manufacture Date : 2018-05-25
Re-Test Date : 2025-07-06

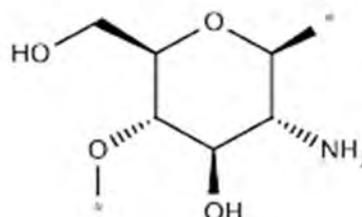
Glentham Life Sciences confirm that the above referenced product conformed to the information displayed in this document on the quality release date. Please check www.glentham.com or contact us using the details above for the current version of this document.

This document was generated electronically and is therefore valid without signature. © Glentham Life Sciences Ltd, 2019

Certificate of Analysis

Product Name : Chitosan, from squid
Glentham Code : GE4907
CAS Number : 9012-76-4
MDL Number : MFCD00161512
PubChem SID : 310269598
Batch Number : 727QLB

Molecular Weight : ~580,000
Molecular Formula : $[C_6H_{11}NO_4]_n$
Storage Temp. : +20°C



Property	Specification	Batch 727QLB
Physical Description	White to light-brown powder	Conforms
Degree of Deacetylation	≥ 90%	93.77%
Ash	≤ 1.0%	0.13%
Viscosity	10 - 100 cps	75.4 cps
Water	≤ 10.0%	3.75%
Solubility (in acetic acid)	≥ 99%	Conforms
pH	6.0 - 8.0 (1% in 1% acetic acid, 20°C)	6.75
Arsenic (As)	≤ 1.0mg/kg	Conforms
Lead (Pb)	≤ 0.5mg/kg	Conforms
Mercury (Hg)	≤ 0.1mg/kg	Conforms
Particle Size	≤ 100 mesh	Conforms
Microbiological Counts	E. coli: Absent	Conforms
	Salmonella spp.: Absent	Conforms
	Yeast and Moulds: ≤ 100 CFU/g	Conforms
	Total Plate Count: ≤ 1000 CFU/g	Conforms

Specification Version : v1.0
Manufacture Date : 2017-04-27
Re-Test Date : 2024-05-04

Glentham Life Sciences confirm that the above referenced product conformed to the information displayed in this document on the quality release date. Please check www.glentham.com or contact us using the details above for the current version of this document.

This document was generated electronically and is therefore valid without signature. © Glentham Life Sciences Ltd, 2017

3.- Resultados de la titulación potenciométrica de las soluciones de quitosanos α y β al 2% p/v.

Análisis en laboratorio externo SLAB –Perú.

DESCRIPCIÓN DE MUESTRA:

Código de Laboratorio	Descripción de muestras
S-0779	QUITOSANO _ ALPHA 2% P/V LOTE: 070PMP _ OC 21188 (c)
S-0780	QUITOSANO _ BETA 2% P/V LOTE: 727 QLB _ OC 21188 (c)

RESULTADOS DE ANÁLISIS

Tabla N°1: RESULTADOS OBTENIDOS

Código de Laboratorio	Parámetro	Unidad	Resultados
S-0779	Determinación de grupos Amino NH_3^+	%	85.51
S-0780	Determinación de grupos Amino NH_3^+	%	85.51

Gráficos para la titulación de la solución 2%p/v del quitosano α

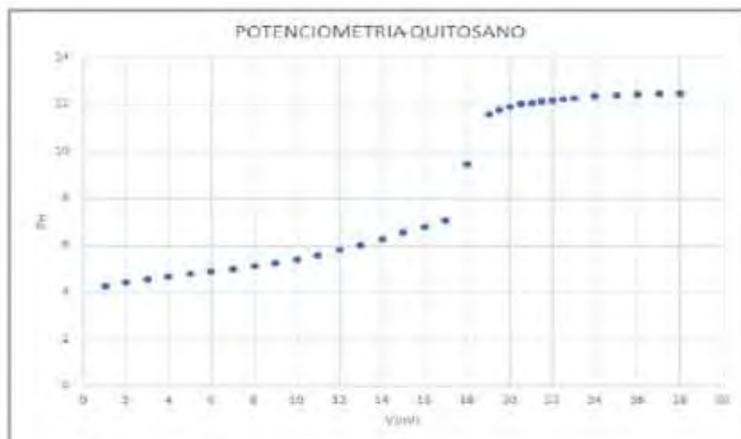


Imagen N°1: POTENCIOMETRIA-QUITOSANO DE LA MUESTRA (S-0779)

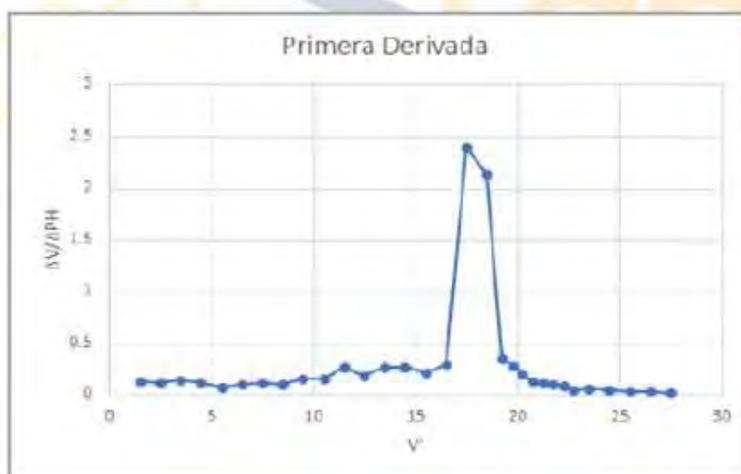


Imagen N°2: PRIMERA DERIVADA DE LA MUESTRA (S-0779)

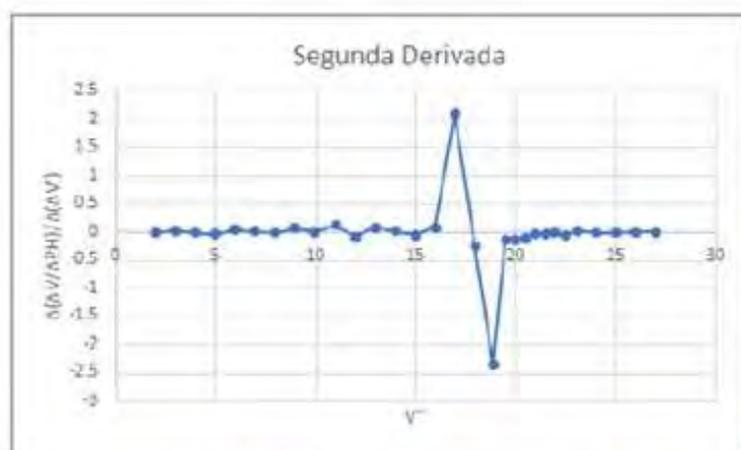


Imagen N°3: SEGUNDA DERIVADA DE LA MUESTRA (S-0779)

Gráficos para la titulación de la solución 2%p/v del quitosano β

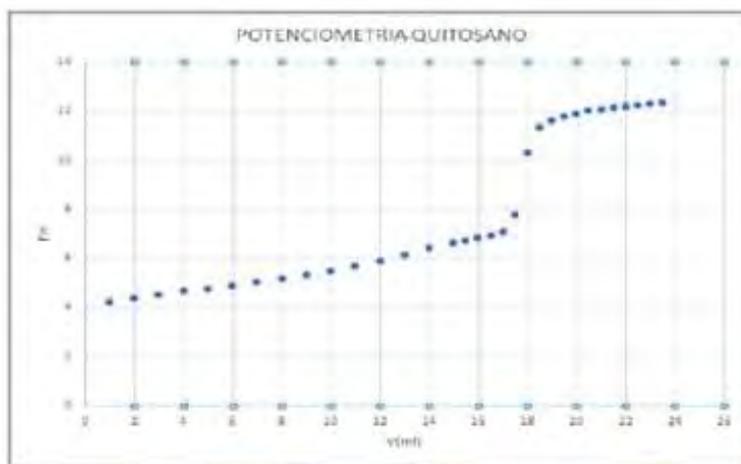


Imagen N°1: POTENCIOMETRIA-QUITOSANO DE LA MUESTRA (S-0780)



Imagen N°2: PRIMERA DERIVADA DE LA MUESTRA (S-0780)

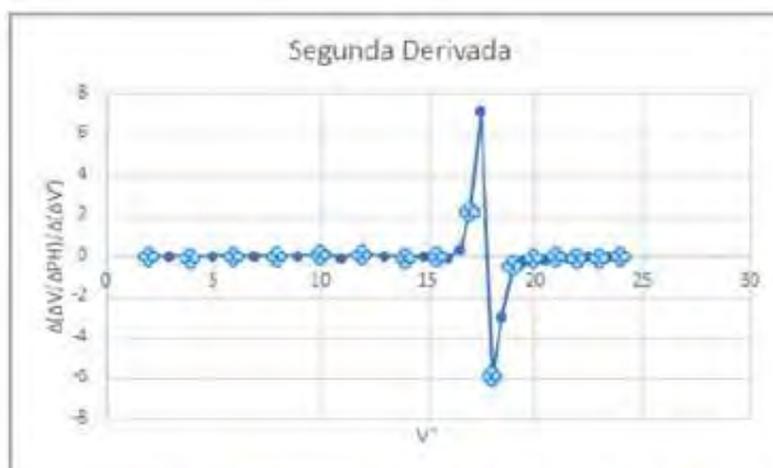
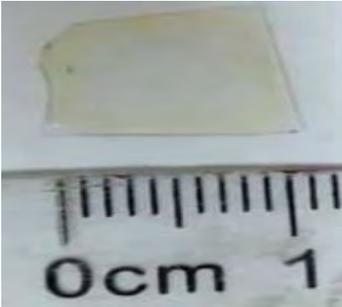


Imagen N°3: SEGUNDA DERIVADA DE LA MUESTRA (S-0780)

4.- Detalles del Microscopio de Fuerza Atómica – MFA:

a) Aspecto de película seca de quitosano, b) muestra de celulosa en soporte de acero, c) puntas para cantilever MFA, d) detalle del soporte punta –brazo voladizo, e) vista del interior del microscopio.



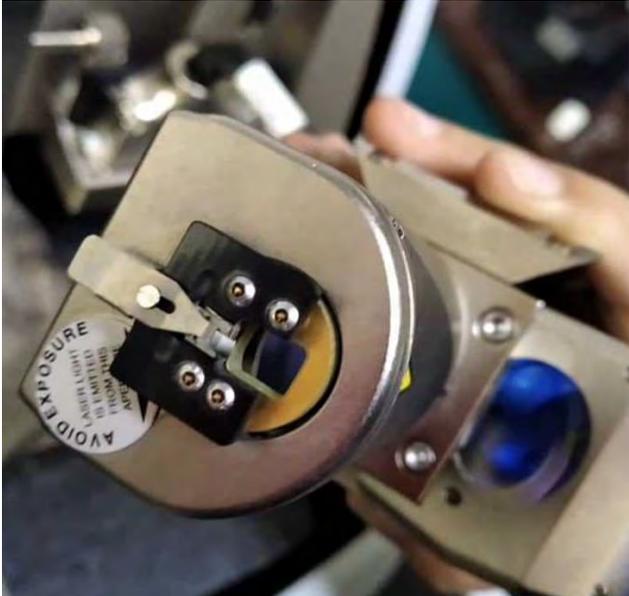
a)



b)



c)



d)

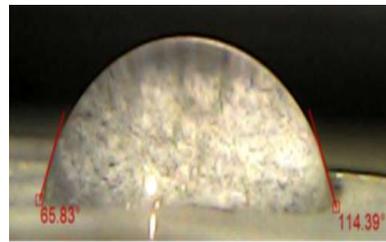


e)

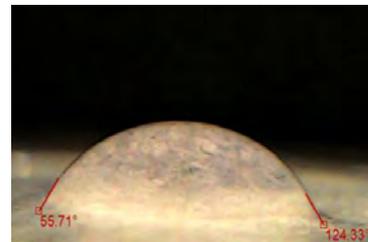
5.- Medición del ángulo de contacto de las mezclas quitosanos – PVP irradiados bajo luz UV.

Muestra	Tiempo de irradiación UV (min)	Angulo de contacto (°)					Promedio (°)	Desviación estándar
Qtα-PVP-1	5
	10	62.02	62.11	62.26	62.17	62.15	62.14	0.09
	15	55.71	55.82	55.7	55.67	55.79	55.74	0.06
	20	62.02	62.11	62.26	62.17	62.15	62.14	0.09
	25	67.11	67.16	67.12	67.25	67.21	67.17	0.06
Qtβ-PVP-1	5							
	10	70.33	70.45	70.22	70.48	70.67	70.43	0.17
	15	50.19	50.21	50.11	50.23	50.29	50.21	0.07
	20
	25
Qtα-PVP-2	5	51.47	51.45	51.50	51.49	51.50	51.48	0.02
	10	47.91	47.89	47.93	47.95	47.84	47.90	0.04
	15	38.83	38.49	38.77	38.21	38.84	38.63	0.27
	20	38.23	38.54	38.11	38.26	38.1	38.25	0.18
	25	55.71	55.69	55.81	55.53	55.72	55.69	0.10
Qtβ-PVP-2	5	51.58	51.53	51.50	52.00	52.01	51.72	0.26
	10	47.17	47.28	47.76	47.82	47.21	47.45	0.32
	15	31.18	31.45	31.37	31.52	31.78	31.46	0.22
	20	43.99	43.91	43.80	43.95	43.83	43.90	0.08
	25	44.33	44.3	44.12	44.83	44.66	44.45	0.29

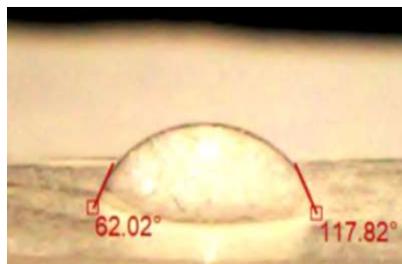
6.- Representación fotográfica de la medición del ángulo de contacto para la mezcla $Qt\alpha$ -PVP-1 a diferentes tiempos de irradiación UV. Método gota sésil con agua destilada.



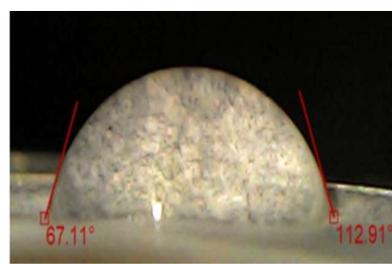
$Qt\alpha$ -PVP-1 – UV 10'



$Qt\alpha$ -PVP-1 – UV 15'

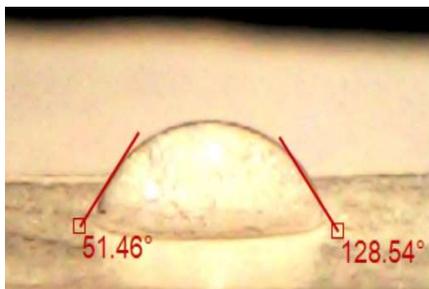


$Qt\alpha$ -PVP-1 – UV 20'

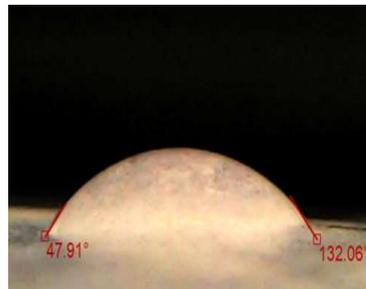


$Qt\alpha$ -PVP-1 – UV 25'

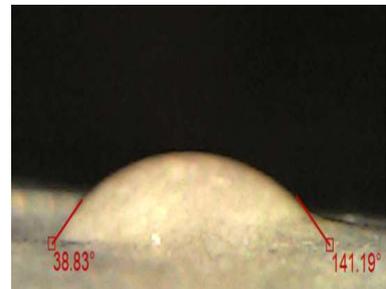
7.- Representación fotográfica de la medición del ángulo de contacto para la mezcla $Qt\alpha$ -PVP-2 a diferentes tiempos de irradiación UV. Método gota sésil con agua destilada.



$Qt\alpha$ -PVP-2 – UV 5'
UV 15'



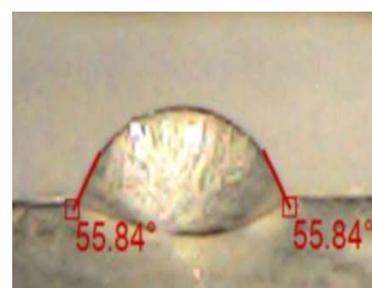
$Qt\alpha$ -PVP-2 – UV 10'



$Qt\alpha$ -PVP-2 –

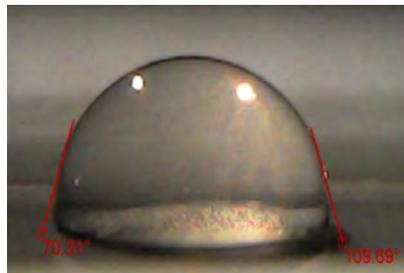


$Qt\alpha$ -PVP-2 – UV 20'

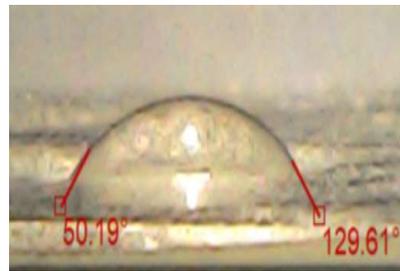


$Qt\alpha$ -PVP-2 – UV 25'

8.- Representación fotográfica de la medición del ángulo de contacto para la mezcla Qtβ-PVP-1 a diferentes tiempos de irradiación UV. Método gota sésil con agua destilada.

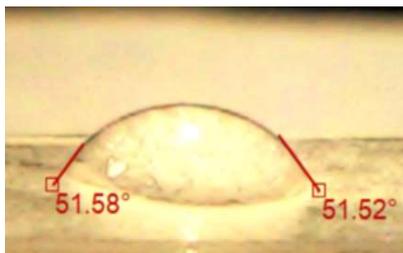


Qtβ-PVP-1 – UV 10'

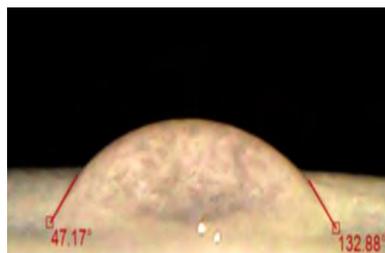


Qtβ-PVP-1 – UV 15'

9.- Representación fotográfica de la medición del ángulo de contacto para la mezcla Qtβ-PVP-2 a diferentes tiempos de irradiación UV. Método gota sésil con agua destilada.



Qtβ-PVP-2 – UV 5'



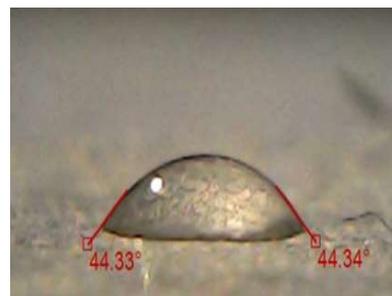
Qtβ-PVP-2 – UV 10'



Qtβ-PVP-2 – UV 15'



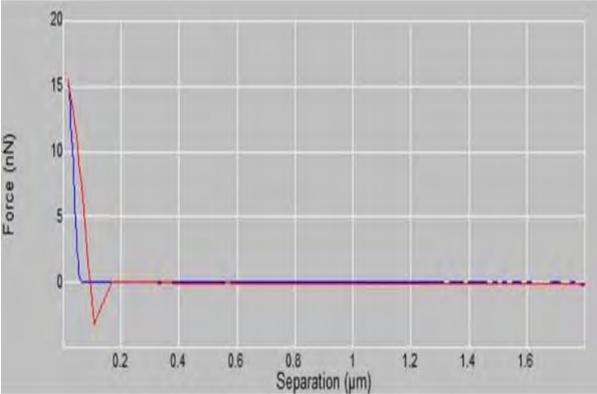
Qtβ-PVP-2 – UV 20'



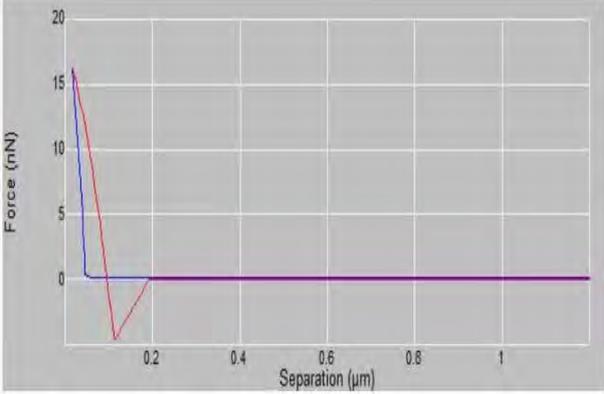
Qtβ-PVP-2 – UV 25'

10.- Representaciones gráficas de la medición de fuerza de adhesión intermolecular vía MFA para: quitosano α (réplicas a, b); quitosano β (réplicas c, d), soporte de alfa celulosa (réplicas e, f).

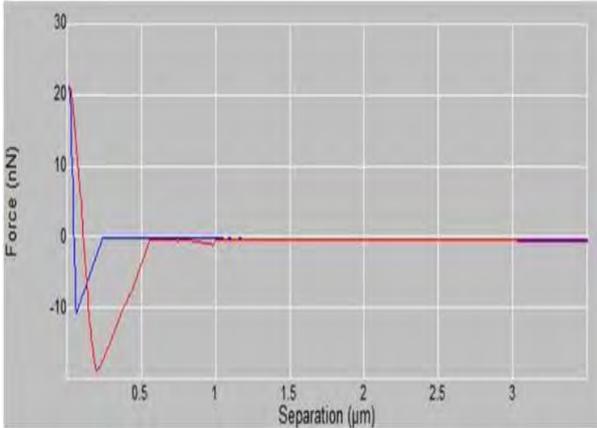
Laboratorio de Espectroscopia Laser, UCV – Venezuela.



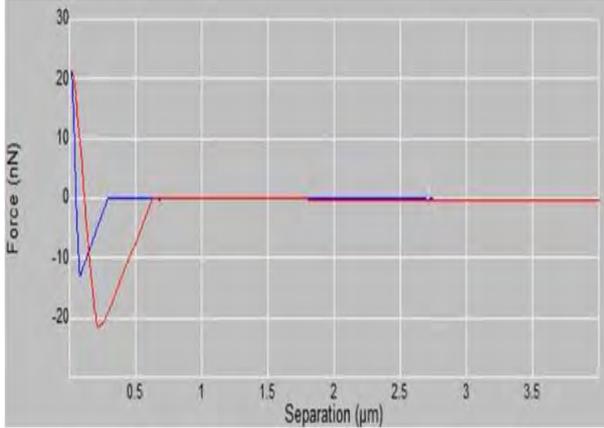
a)



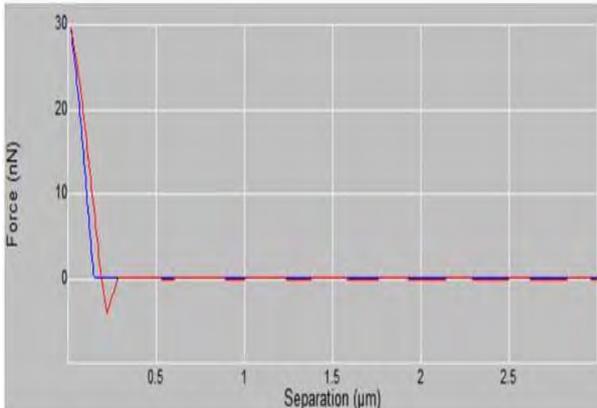
b)



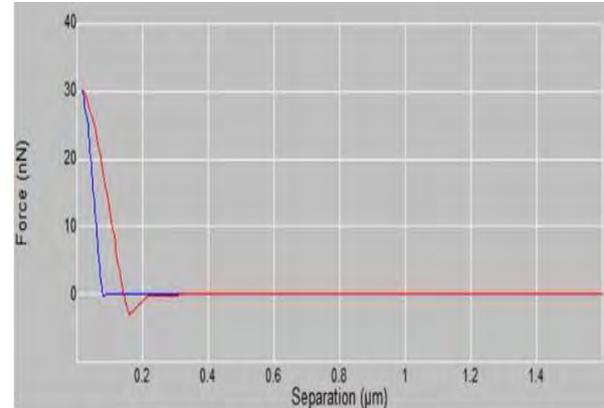
c)



d)

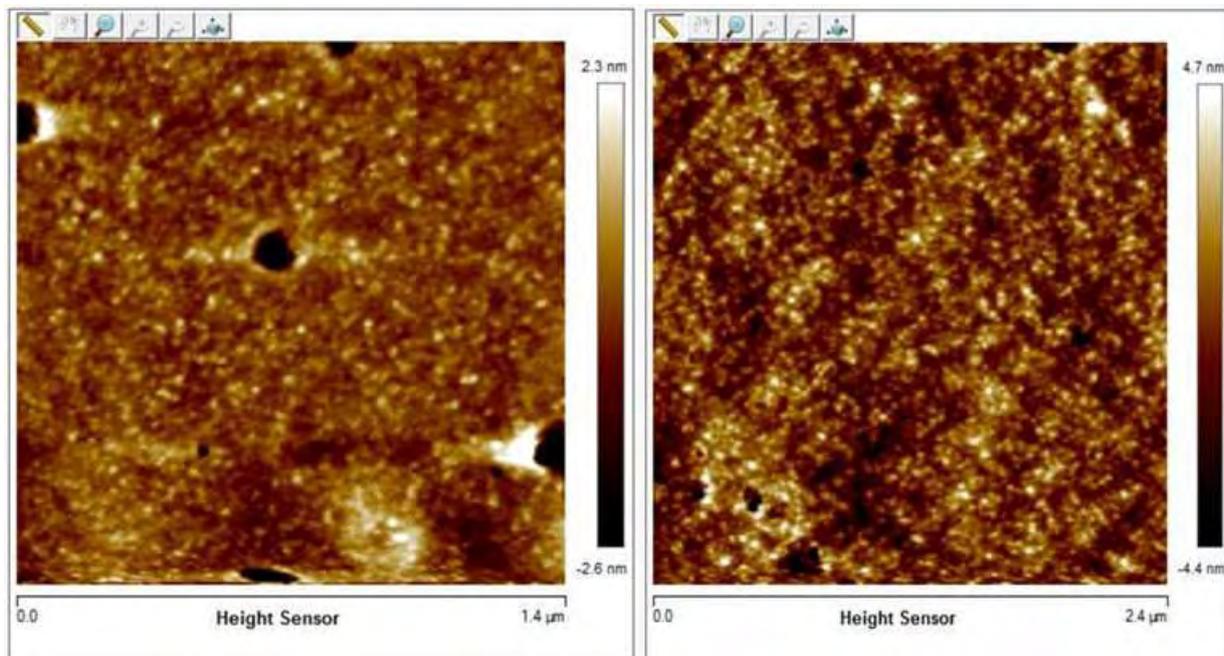
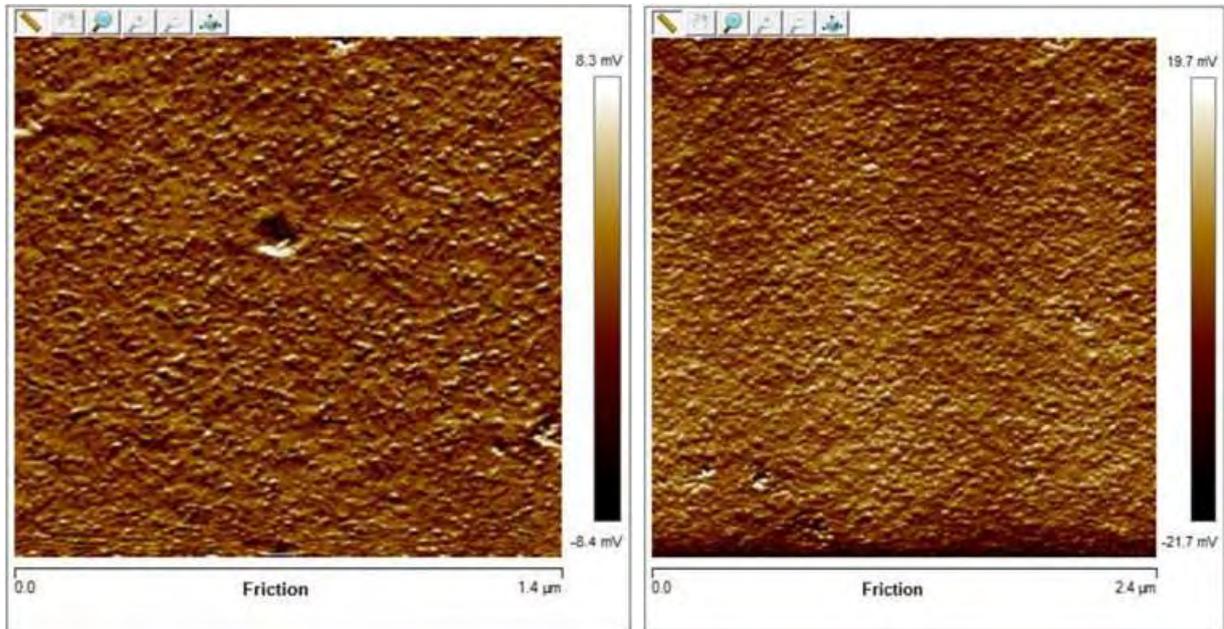


e)

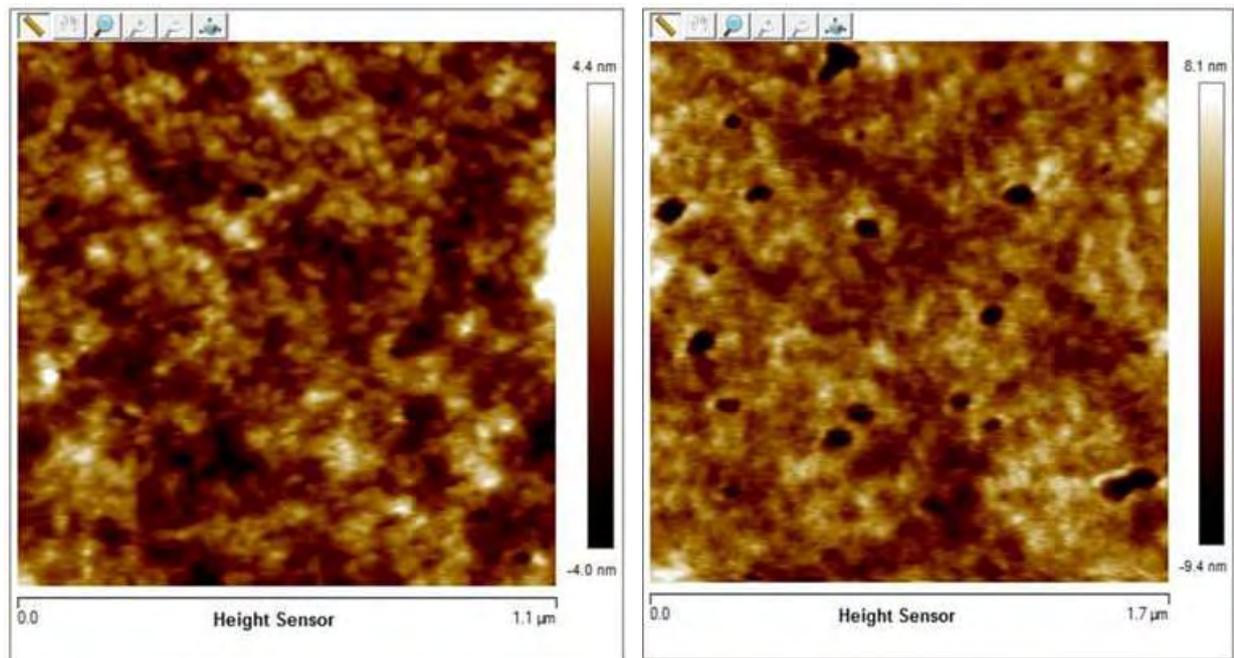
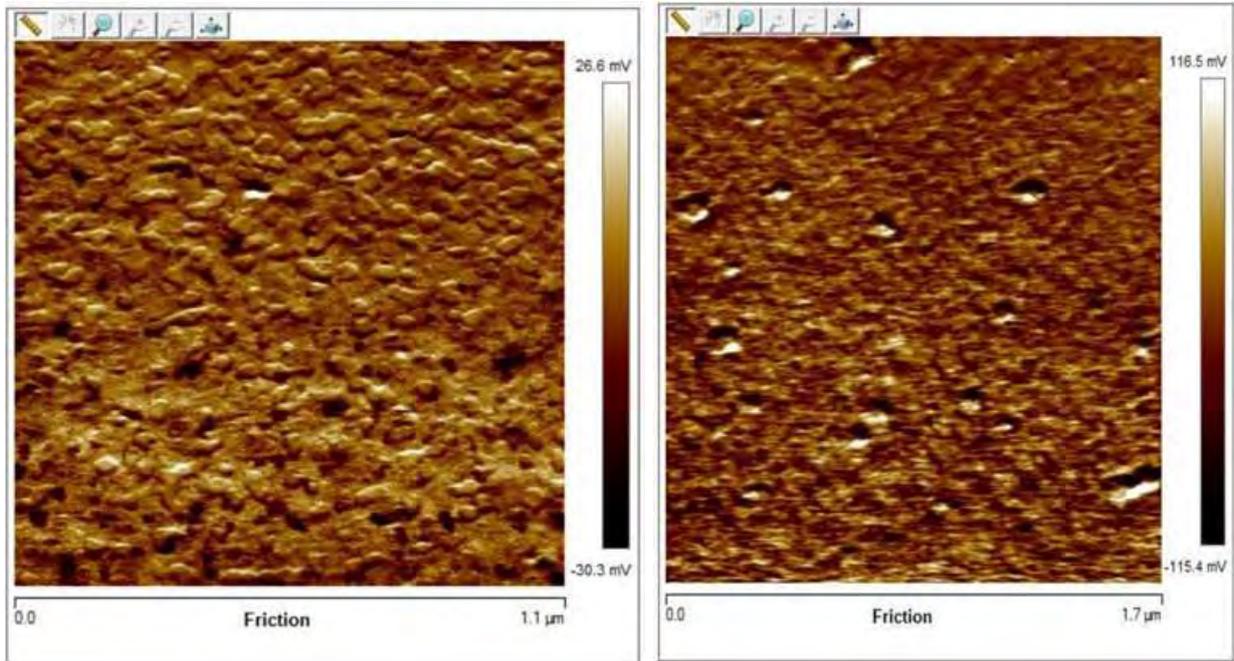


f)

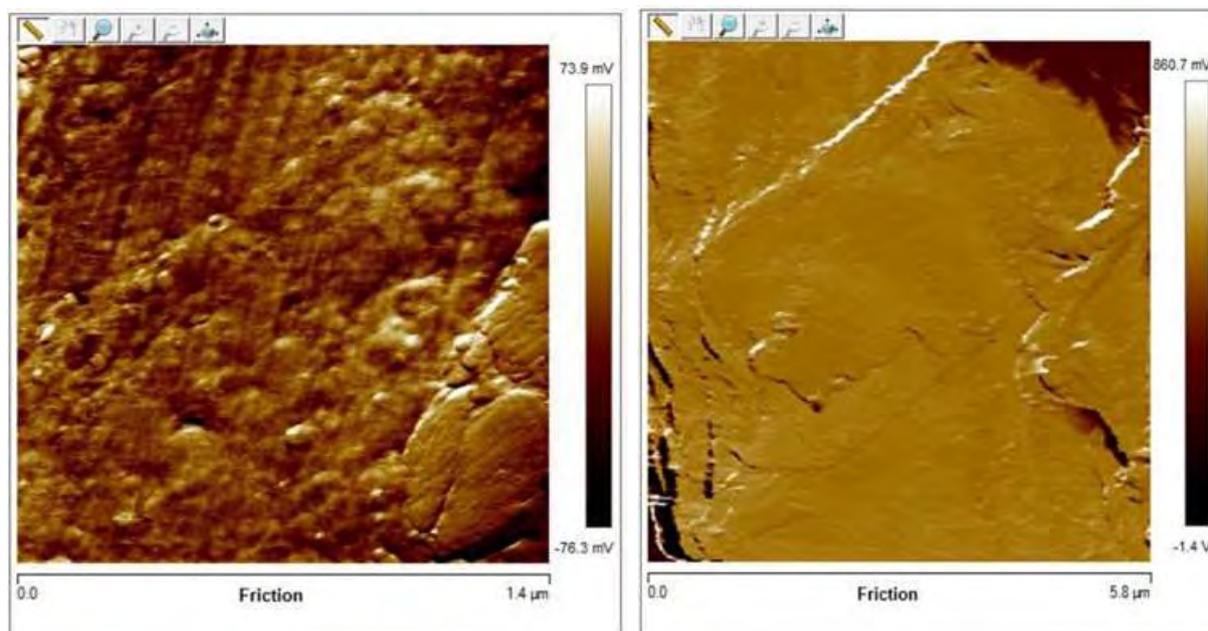
11.- Microfotografías 2D de la película de quitosano α bajo microscopio MFA a 1.4 μ m y 2.4 μ m.



12.- Microfotografías 2D de la película de quitosano β bajo microscopio MFA a 1.1 μm y 1.7 μm .



13.- Microfotografías 2D del soporte de alfa celulosa bajo microscopio MFA a 1.4 μ m y 5.8 μ m.



14.- Resultados del análisis estadístico de los datos derivados del método de resistencia al pelado en conformación T. Evaluación realizada a través del software R, aplicando el ensayo Dickey Fuller sobre las series de datos del quitosano α puro.

Muestra	Serie de datos	Ensayo estadístico Dickey - Fuller - Software R	Reporte de <i>valor p</i> : <0.05 aceptado	Resultado estadístico
Quitosano α puro	Qt α Puro-1	data: Qt169 Dickey-Fuller = -4.6435, Lag order = 13, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.01	Estacionario
	Qt α Puro-4	data: Qt171 Dickey-Fuller = -5.0989, Lag order = 13, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.01	Estacionario

15.- Resultados del análisis estadístico de los datos derivados del método de resistencia al pelado en conformación T. Evaluación realizada a través del software R, aplicando el ensayo Dickey Fuller sobre las series de datos del quitosano β puro.

Muestra	Serie de datos	Ensayo estadístico Dickey - Fuller - Software R	Reporte de <i>valor p</i> : <0.05 aceptado	Resultado estadístico
Quitosano β puro	Qt β Puro-2	Data: Qt172 Dickey-Fuller = -5.2731, Lag order = 7, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.01	Estacionario
	Qt β Puro-4	Data: Qt173 Dickey-Fuller = -5.4556, Lag order = 7, p value=0.01 alternative hypothesis: stationary	0.01	Estacionario

16.- Resultados del análisis estadístico de los datos derivados del método de resistencia al pelado en conformación T. Evaluación realizada a través del software R, aplicando el ensayo Dickey Fuller sobre las series de datos de la funcionalización del quitosano α - PVP – Mezcla 1.

Muestra	Serie de datos	Ensayo estadístico Dickey - Fuller - Software R	Reporte de valor p : <0.05 aceptado	Resultado estadístico
Mezcla: Qtα - PVP1	Qt α M1-5min-1	Data: Qt188 Dickey-Fuller = -4.5484, Lag order = 9, p-value = 0.1304 alternative hypothesis: stationary	0.1304	No estacionario
	Qt α M1-5min-2	Data: Qt189 Dickey-Fuller = -5.0524, Lag order = 9, p-value = 0.1786 alternative hypothesis: stationary	0.1786	No estacionario
	Qt α M1-10min-1	Data: Qt190 Dickey-Fuller = -4.7261, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt α M1-10min-2	Data: Qt191 Dickey-Fuller = -5.0539, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt α M1-15min-1	Data: Qt192 Dickey-Fuller = -3.8214, Lag order = 9, p-value = 0.01793 alternative hypothesis: stationary	0.01793	Estacionario
	Qt α M1-15min-2	Data: Qt193 Dickey-Fuller = -5.3877, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt α M1-20min-1	Data: Qt194 Dickey-Fuller = -5.3877, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt α M1-20min-2	Data: Qt195 Dickey-Fuller = -3.9546, Lag order = 9, p-value = 0.01127 alternative hypothesis: stationary	0.01127	Estacionario
	Qt α M1-25min-1	Data: Qt196 Dickey-Fuller = -4.2615, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt α M1-25min-2	Data: Qt197 Dickey-Fuller = -4.278, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario

17.- Resultados del análisis estadístico de los datos derivados del método de resistencia al pelado en conformación T. Evaluación realizada a través del software R, aplicando el ensayo Dickey Fuller sobre las series de datos de la funcionalización del quitosano α - PVP – Mezcla 2.

Muestra	Serie de datos	Ensayo estadístico Dickey - Fuller - Software R	Reporte de valor p : <0.05 aceptado	Resultado estadístico
Mezcla: Qtα – PVP2	Qt α M2-5min-1	Data: Qt158 Dickey-Fuller = -4.0856, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt α M2-5min-2	Data: Qt159 Dickey-Fuller = -4.2888, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt α M2-10min-1	Data: Qt164 Dickey-Fuller = -4.7443, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt α M2-10min-2	Data: Qt224 Dickey-Fuller = -4.2166, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt α M2-15min-1	Data: Qt165 Dickey-Fuller = -3.972, Lag order = 9, p-value = 0.0104 alternative hypothesis: stationary	0.0104	Estacionario
	Qt α M2-15min-2	Data: Qt223 Dickey-Fuller = -4.509, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt α M2-20min-1	Data: Qt166 Dickey-Fuller = -4.4044, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt α M2-20min-4	Data: Qt169 Dickey-Fuller = -4.2176, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt α M2-25min-1	Data: Qt170 Dickey-Fuller = -4.8477, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt α M2-25min-2	Data: Qt171 Dickey-Fuller = -3.7166, Lag order = 9, p-value = 0.02317 alternative hypothesis: stationary	0.02317	Estacionario

18.- Resultados del análisis estadístico de los datos derivados del método de resistencia al pelado en conformación T. Evaluación realizada a través del software R, aplicando el ensayo Dickey Fuller sobre las series de datos de la funcionalización del quitosano β - PVP – Mezcla 1.

Muestra	Serie de datos	Ensayo estadístico Dickey - Fuller - Software R	Reporte de <i>valor p</i> : <0.05 aceptado	Resultado estadístico
Mezcla: Qtβ- PVP1	Qt β M1-5min-3	Data: Qt200 Dickey-Fuller = -1.4022, Lag order = 9, p-value = 0.8314 alternative hypothesis: stationary	0.8314	No estacionario
	Qt β M1-5min-4	Data: Qt201 Dickey-Fuller = -1.619, Lag order = 9, p-value = 0.7396 alternative hypothesis: stationary	0.7396	No estacionario
	Qt β M1-10min-1	Data: Qt202 Dickey-Fuller = -5.8659, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt β M1-10min-2	Data: Qt203 Dickey-Fuller = -4.7975, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt β M1-15min-1	Data: Qt205 Dickey-Fuller = -5.3886, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt β M1-15min-2	Data: Qt206 Dickey-Fuller = -4.7091, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt β M1-20min-2	Data: Qt208 Dickey-Fuller = -3.1876, Lag order = 9, p-value = 0.09007 alternative hypothesis: stationary	0.0900	No estacionario
	Qt β M1-20min-4	Data: Qt210 Dickey-Fuller = -3.1491, Lag order = 9, p-value = 0.09671 alternative hypothesis: stationary	0.0967	No estacionario
	Qt β M1-25min-1	Data: Qt211 Dickey-Fuller = -2.5247, Lag order = 9, p-value = 0.3562 alternative hypothesis: stationary	0.3562	No estacionario
	Qt β M1-25min-2	Data: Qt212 Dickey-Fuller = -2.4488, Lag order = 9, p-value = 0.3883 alternative hypothesis: stationary	0.3883	No estacionario

19.- Resultados del análisis estadístico de los datos derivados del método de resistencia al pelado en conformación T. Evaluación realizada a través del software R, aplicando el ensayo Dickey Fuller sobre las series de datos de la funcionalización del quitosano β - PVP – Mezcla 2.

Muestra	Serie de datos	Ensayo estadístico Dickey - Fuller – Software R	Reporte de valor p : <0.05 aceptado	Resultado estadístico
Mezcla: Qtβ– PVP2	Qt β M2-5min-1	Data: Qt173 Dickey-Fuller = -4.9475, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt β M2-5min-2	Data: Qt174 Dickey-Fuller = -4.6049, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt β M2-10min-1	Data: Qt175 Dickey-Fuller = -4.7244, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt β M2-10min-2	Data: Qt176 Dickey-Fuller = -3.4441, Lag order = 8, p-value = 0.04768 alternative hypothesis: stationary	0.0477	Estacionario
	Qt β M2-15min-1	Data: Qt179 Dickey-Fuller = -3.7564, Lag order = 9, p-value = 0.02118 alternative hypothesis: stationary	0.0212	Estacionario
	Qt β M2-15min-2	Data: Qt180 Dickey-Fuller = -4.2359, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt β M2-20min-2	Data: Qt182 Dickey-Fuller = -5.5066, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt β M2-20min-4	Data: Qt184 Dickey-Fuller = -3.8673, Lag order = 9, p-value = 0.01563 alternative hypothesis: stationary	0.01563	Estacionario
	Qt β M2-25min-1	Data: Qt185 Dickey-Fuller = -4.4983, Lag order = 9, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt β M2-25min-3	Data: Qt187 Dickey-Fuller = -3.5358, Lag order = 9, p-value = 0.03886 alternative hypothesis: stationary	0.0389	Estacionario

20.- Resultados del análisis estadístico de los datos derivados del método de resistencia al pelado en conformación T. Evaluación realizada a través del software R, aplicando el ensayo Dickey Fuller sobre las series de datos de la funcionalización del quitosano α - Gt – Mezcla 1 y quitosano β - Gt – Mezcla 1.

Muestra	Serie de datos	Ensayo estadístico Dickey - Fuller – Software R	Reporte de valor p : <0.05 aceptado	Resultado estadístico
Mezcla: Qtα - Gt-1	Qt AlphaGT-1	Data: Qt217 Dickey-Fuller = -5.3849, Lag order = 13, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
	Qt AlphaGT-2	Data: Qt218 Dickey-Fuller = -5.308, Lag order = 13, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario
Mezcla: Qtβ- Gt-1	Qt BetaGT-1	Data: Qt219 Dickey-Fuller = -3.9213, Lag order = 13, p-value = 0.01292 alternative hypothesis: stationary	0.0129	Estacionario
	Qt BetaGT-2	Data: Qt220 Dickey-Fuller = -5.0167, Lag order = 13, p-value = 0.01 alternative hypothesis: stationary	0.0100	Estacionario

21.- Resultados del análisis estadístico de los datos derivados del método de resistencia al pelado en conformación T. Evaluación realizada a través del software R, aplicando el ensayo Dickey Fuller sobre las series de datos del almidón.

Muestra	Serie de datos	Ensayo estadístico Dickey - Fuller – Software R	Reporte de valor p : <0.05 aceptado	Resultado estadístico
Adhesivo almidón	Almidón puro-1	Data: Qt222 Dickey-Fuller = -3.5624, Lag order = 9, p-value = 0.0363 alternative hypothesis: stationary	0.0363	Estacionario
	Almidón puro-2	Data: Qt223 Dickey-Fuller = -3.5342, Lag order = 9, p-value = 0.0359 alternative hypothesis: stationary	0.0359	Estacionario