



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE
MATERIALES HÍBRIDOS A BASE DE QUITOSANO-SiO₂**

TESIS presentada por:

NORMA INÉS HINOJOSA FLORES

**A la División de Estudios de Posgrado de la
Facultad de Ingeniería Química como
requisito parcial para obtener el
grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN
INGENIERÍA QUÍMICA**

Morelia, Michoacán.

Diciembre 2006

RESUMEN

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES HÍBRIDOS A BASE DE QUITOSANO-SiO₂

Por:

Norma Inés Hinojosa Flores

Diciembre del 2006.

Maestro en Ciencias en Ingeniería Química

Dirigida por: Dr. Jaime Espino Valencia y

Dra. Nelly Flores Ramírez.

En el presente trabajo se describe la obtención de un material híbrido quitosano-SiO₂ que posteriormente servirá de soporte para la inmovilización de enzimas. La matriz inorgánica fue sintetizada por el Proceso Sol-Gel obteniendo formas específicas llamadas monolitos, las cuales fueron secadas a 100 °C por 14 horas y posteriormente calcinadas a 500 °C durante 6 horas. El biopolímero quitosano fue adsorbido sobre el SiO₂ vía inmersión húmeda en medio ácido. Se estudio la capacidad de adsorción del Quitosano en SiO₂ a las cantidades siguientes 0.25, 0.5, 0.75, y 1 gramo, tiempos de inmersión de 15, 30, 60, 90 y 120 minutos y temperaturas de 25, 50 y 70 °C. Las muestras húmedas se secaron a una temperatura de 80 °C por 24 horas para determinar el porcentaje de adsorción de la solución QT-HAC.

Los materiales híbridos obtenidos fueron caracterizados por Difracción de Rayos X, Área Superficial (BET), Microscopia Electrónica de Barrido (SEM), Espectroscopía Infrarroja (FTIR), y Análisis Termogravimétrico (TGA). Los resultados muestran que la mejor adsorción de la solución QT-HAC fue a tiempos de inmersión de 90 y 120 minutos, una temperatura de 50 y 70°C y concentración de QT de 1 gramo. De acuerdo a los análisis realizados, el material híbrido obtenido presentó un comportamiento característico de un material amorfo, muy similar a su

precursor el SiO₂, disminuyendo el efecto del quitosano, debido a la alta concentración del material inorgánico. Se observaron cambios estructurales importantes en los materiales híbridos.

La morfología superficial del SiO₂ presentó modificaciones en la superficie, destacándose la presencia de un simple homopolímero. El material obtenido presentó porosidad, y se evidenció la presencia del quitosano principalmente en la superficie de los monolitos de SiO₂. Los resultados sugieren que es posible producir materiales híbridos con una alta eficiencia, para su futura aplicación como soportes en sistemas de inmovilización de enzimas.

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, la salud, mi familia y mi más grande amor mi hija.

A mi hija Norma Guadalupe, por ser el motor de mi vida a quien amo tanto, siempre acompañándome y dándome palabras de aliento para que este momento llegará.

A mi esposo José Guadalupe, porque a lo largo de estos años que hemos compartido juntos me ha dado su amor, su confianza, y su apoyo incondicional para seguir adelante.

A mi madre Elsa María por su infinito amor y su gran apoyo incondicional durante toda mi vida, confiando siempre en mi. A Don Luis porque sé que siempre cuento con él.

A mi hermana Ana, con la que he compartido tantos momentos y quiero mucho, brindándome siempre confianza.

A mis abuelos Simón⁺ Anita⁺ y Angela⁺ aunque no estén físicamente conmigo siempre los recordaré. Gracias por su cariño.

A mis tíos Rafaela, Luis Ignacio, Rosa Elvia, Joaquina, Ma. Eugenia y Miguel Angel, por su gran apoyo y motivación, confiando siempre en mi.

A los señores Felipe González y Oliva García por su apoyo, su confianza y su respeto.

A mis primos Tita, Erandi, Carlos y Karel, porque siempre están conmigo.

Al C.P. Mario Tapia, Lic. Alejandrino Bustos, Ing. Cuauhtémoc García, Ing. Gerardo Zavala, Ing. Rodolfo Ortiz, Lic. Tania M. Álvarez, y Lic. Manuel Álvarez Barrientos por su gran apoyo y respeto.

A mis amigas Nelly, Marina y Lorena⁺ por su amistad y su motivación en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en especial a la FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA por haberme brindado las herramientas y conocimientos necesarios para mi formación académica siempre bajo los principios éticos de su ilustre legado.

A mis asesores, Dr. Jaime Espino Valencia y la Dra. Nelly Flores Ramírez por su paciencia, su tolerancia, su tiempo y sus valiosas aportaciones para llevar a cabo la realización de este trabajo.

A los miembros de la mesa, Dr. Luis Ignacio Salcedo Estrada, Dr. Medardo Serna González y Dr. Agustín Jaime Castro Montoya por sus observaciones y comentarios propositivos para el mejoramiento de mi trabajo.

Al Dr. Salomón Vásquez García, por su apoyo brindado y dispuesto siempre a apoyarme en la realización de este trabajo.

Al Dr. José Luis Rico Cerda, Dra. Mariana Ramos Estrada y la Sra. Victoria Luque Valdivia por brindarme el espacio y equipo requerido para llevar a cabo la experimentación.

Al Dr. Gabriel Luna Barcenas, Dr. Oscar Gómez Guzmán, Ing. J. Eleazar Urbina Álvarez, Araceli Mauricio Sánchez y Ma. del Carmen Delgado, CINVESTAV CAMPUS JURIQUILLA, por su gran apoyo para la caracterización de los materiales.

Al Ing. Carlos Órnelas Gutiérrez, M.C. Daniel Lardizabal, CIMAV (Centro de Investigación en Materiales Avanzadas), por su apoyo para la caracterización de los materiales.

A la planta docente y administrativa de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería Química, por su apoyo tan importante durante mis estudios de maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por su generosa aportación.

Al programa PROMEP por la disposición de los recursos materiales requeridos a través del apoyo PTC-104.

Al Colegio de Bachilleres del Estado de Michoacán por su apoyo tan importante durante mis estudios de maestría.

A mis amigos que siempre me brindaron su apoyo durante mis estudios de maestría en especial a: Liz, Raymundo, Omar, Gary, Federico, Gladys, Rosario, Mirna y Omar Surisadai.

INDICE

CONTENIDO	PAGINA
Resumen	iii
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Lista de tablas	xi
Lista de figuras	xii
Lista de Abreviaturas	xv
Glosario de términos	xvi
Capítulo 1. Introducción	1
1.1 Generalidades.	1
1.2 Objetivos.	2
1.2.1 Objetivo general.	2
1.2.2 Objetivos específicos.	2
1.3 Justificación.	2
1.4 Alcance.	3
1.5 Hipótesis.	4
Capítulo 2. Marco Teórico	5
2.1. Polímeros.	5
2.1.1. Polímeros / monómeros.	5
2.1.2. Clasificación de polímeros.	5
2.1.2.1. Según su origen.	5
a).- Polímeros naturales.	5
b).- Polímeros sintéticos.	6
2.1.2.2. Según su composición.	8
a).- Polímeros orgánicos.	8
b).- Polímeros inorgánicos.	8
c).- Polímeros híbridos.	11
2.1.2.3. Según sus propiedades físicas.	12

a).- Fibras.	13
b).- Elastómeros.	13
c).- Plásticos.	13
d).- Adhesivos.	13
2.1.3. Procesos de polimerización.	13
2.1.3.1. Polímeros orgánicos.	14
a) Polimerización en suspensión.	14
b) Polimerización en solución.	14
c) Polimerización en emulsión.	14
d) Polimerización en masa.	14
2.1.3.2. Polímeros inorgánicos (Sol-Gel).	14
2.2. Transiciones térmicas de los polímeros.	16
2.2.1. Temperatura de transición vítrea (T_g).	16
2.2.2. Temperatura de fusión (T_m).	16
2.2.3. Temperatura de degradación.	18
2.3. Procesos de degradación.	18
2.4. Polímero natural Quitosano (QT).	19
2.4.1. Aspectos generales.	19
2.4.2. Propiedades del Quitosano.	22
2.4.2.1. Características físico-químicas.	22
2.4.2.2. Nivel de reactividad.	23
2.4.2.3. Propiedades de solubilidad y viscosidad.	23
2.4.2.4. Características biológicas.	24
2.4.3. Reacciones del Quitosano.	24
2.4.3.1. Formación de policomplejos.	24
2.4.3.2. Reacciones de entrecruzamiento.	25
2.4.3.3. Cuaternización, alquilación exhaustiva del grupo amino.	25
2.4.3.4. Preparación y modificación de electrodos.	25
2.4.4. Aplicaciones del Quitosano.	26
2.4.4.1. Inmovilización de enzimas.	27
a).- Biosensores.	29

3.3. Técnicas analíticas de caracterización.	46
3.3.1. Difracción de rayos X (DRX).	46
3.3.2. Medición de área superficial (BET).	46
3.3.3. Microscopía electrónica de barrido (SEM).	46
3.3.4. Espectroscopía infrarroja (FT-IR).	46
3.3.5. Análisis termogravimétrico (TGA).	47
Capítulo 4. Discusión de resultados	48
4.1. Observaciones del proceso Sol-Gel y producto de reacción.	48
4.1.1. Proceso Sol-Gel y adsorción de la solución QT-HAC.	48
4.2. Técnicas de medición.	50
4.2.1. pH de las soluciones QT-HAC.	50
4.2.2. Densidad y Viscosidad de las soluciones QT-HAC.	51
4.2.3. Cálculo del porcentaje de adsorción de la solución QT- HAC.	53
4.3. Técnicas analíticas de caracterización.	57
4.3.1. Difracción de rayos X (RX).	57
4.3.2. Medición del Área Superficial (BET).	59
4.3.3. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Análisis Químico Puntual.	60
4.3.3.1. Influencia de la temperatura en la adsorción de QT-HAC.	61
4.3.3.2. Influencia de concentración de QT en la adsorción de QT-HAC.	63
4.3.4. Espectroscopia infrarroja (FT-IR)	70
4.3.5. Análisis termogravimétrico (TGA).	78
Conclusiones	84
Bibliografía	86

LISTA DE TABLAS

No. de tabla	Nombre	Página
3.1	Propiedades físicas de los reactivos.	37
3.2	Temperatura, concentración de QT, tiempo de inmersión y nombre de la muestra.	44
3.3	Temperatura, concentración de QT, tiempo de inmersión y nombre de la muestra.	45
4.1	Valores obtenidos de pH de las soluciones QT-HAC.	50
4.2	Valores obtenidos de densidad y viscosidad de las soluciones QT-HAC.	52
4.3	Adsorción de la solución QT-HAC en el monolito de SiO ₂ a 25°C.	53
4.4	Adsorción de la solución QT-HAC en el monolito de SiO ₂ a 90 min.	55
4.5	Adsorción de la solución QT-HAC en el monolito de SiO ₂ a 120 min.	56
4.6	Regiones de absorción de las vibraciones del SiO ₂ puro.	71
4.7	Regiones de absorción de las vibraciones del quitosano puro.	72

LISTA DE FIGURAS

No. de figura	Nombre	Página
2.1	Estructura de un polímero inorgánico de silicona.	9
2.2	Formación de un copolímero mediante la agregación de DMFS.	9
2.3	Graficas de calor contra temperatura de los fenómenos que ocurren al calentar un polímero.	17
2.4	Unidad repetitiva de la estructura química de la quitina.	20
2.5	Proceso general para la obtención del quitosano.	21
2.6	Unidad repetitiva de la estructura química de a).Quitano b).Quitosano.	21
3.1	Obtención del monolito de SiO ₂ mediante el proceso Sol-Gel.	38
3.2	Sistema de reacción implementado en la primera etapa de síntesis.	39
3.3	Muestras de SiO ₂ en proceso de gelación.	40
3.4	Perfil de temperatura para el secado de monolitos de SiO ₂	42
3.5	a). Quitosano en estado sólido. b). Solución de QT-HAC.	43
4.1	Material de SiO ₂ .	48
4.2	Monolitos de SiO ₂ después del proceso de secado.	49
4.3	Monolitos de SiO ₂ después del proceso de calcinación.	49
4.4	Monolito de SiO ₂ inmerso en la solución QT-HAC.	50
4.5	pH contra concentración de QT en solución HAC.	51
4.6	Densidad contra concentración de QT en solución HAC.	52
4.7	Viscosidad contra concentración de QT en solución HAC.	53
4.8	Comportamiento de adsorción de la solución QT-HAC a 25°C.	54
4.9	Comportamiento de adsorción de la solución QT-HAC a 90 min.	56
4.10	Comportamiento de adsorción de la solución QT-HAC a 120 min.	57
4.11	Difractograma del material de SiO ₂ .	58
4.12	Difractograma del biopolímero Quitosano.	58
4.13	Difractograma del material híbrido 50/1/120.	59
4.14	Distribución de tamaño de poro del monolito de SiO ₂ .	60

4.15	Micrografia del monólito de SiO ₂ . a) 500 y b) 1000 aumentos.	60
4.16	Micrografía de quitosano puro a 10000 aumentos.	61
4.17	Micrografías del material híbrido 25/0.25/120. a) 500 y b) 5000 aumentos.	61
4.18	Micrografías del material híbrido 50/0.25/120. a) 500 y b) 5000 aumentos.	62
4.19	Micrografías del material híbrido 70/0.25/120. a) 500 y b) 5000 aumentos.	62
4.20	Análisis químico puntual en grumos del material híbrido a 70/0.25/120.	63
4.21	Micrografías del material híbrido 50/0.25/90. a) 500 y b) 5000 aumentos.	64
4.22	Micrografías del material híbrido 50/1/90. a) 500 y b) 5000 aumentos.	64
4.23	Análisis químico puntual en grumo del material híbrido a 50/1/90.	65
4.24	Análisis químico puntual en matriz del material híbrido 50/1/90.	66
4.25	Micrografías del material híbrido 70/1/120. a) 500 y b) 5000 aumentos.	66
4.26	Análisis químico puntual en grumo del material híbrido 70/1/120.	67
4.27	Análisis químico puntual en matriz del material híbrido 70/1/120.	68
4.28	Micrografías de corte transversal del material híbrido 50/1/120. a) 1000 y b) 6500 aumentos.	69
4.29	Micrografías de corte transversal del material híbrido 50/1/120. a) 12000 y b) 20000 aumentos.	69
4.30	Análisis químico puntual en matriz del material híbrido 50/1/120.	70
4.31	Espectro infrarrojo del monolito de SiO ₂ .	71
4.32	Espectro infrarrojo correspondiente al quitosano puro.	73
4.33	Espectro infrarrojo del material híbrido 25/0.25/120.	74
4.34	Espectro infrarrojo del material híbrido 50/0.25/120.	74
4.35	Espectro infrarrojo del material híbrido 25/0.75/120.	75
4.36	Espectro infrarrojo del material híbrido 25/1/120.	76

4.37	Comparación de temperatura en espectros de los materiales híbridos.	77
4.38	Comparación de concentración en espectros de los materiales híbridos.	78
4.39	Termograma del material híbrido 25/1/90.	79
4.40	Termograma del material híbrido 50/1/90.	79
4.41	Termograma del material híbrido 70/1/90.	80
4.42	Termograma del material híbrido 50/0.25/90.	81
4.43	Termograma del material híbrido 50/0.75/90.	81
4.44	Termograma del material híbrido variando tiempo. a)70/1/90 y b)70/1/120.	82
4.45	Termograma del material híbrido variando concentración a)70/0.75/90 y b)70/1/90.	83

LISTA DE ABREVIATURAS.

ADN. Ácido desoxirribonucleico.

ARN. Ácido ribonucleico

HAC. Ácido acético.

HNO₃. Ácido nítrico.

SEM. Microscopia Electrónica de Barrido.

pH. Medida del grado de acidez.

QT. Quitosano.

DRX. Difracción de rayos X.

T_g. temperatura de transición vítrea.

TGA. Análisis termogravimétrico.

T_m. Temperatura de fusión.

TEOS. Tetraetilortosilicato

SiO₂. Sílice.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Amorfo. Que no posee un ordenamiento determinado. Es decir que sus moléculas están entrelazadas de cualquier forma.

Calor latente. Calor que se elimina o absorbe cuando un material se funde o congela, hierve o condensa.

Capacidad calorífica. La cantidad de calor que se necesita para elevar la temperatura de un gramo de material un grado Celsius.

Cerámico. Material que se caracteriza por tener buena resistencia y alta temperatura de fusión, pero la ductilidad y conductividad eléctrica deficientes.

Coloide. Sistema de dos o más fases, en que una (la dispersa) se distribuye por la otra (fase continua).

Complejo. Dos o más moléculas las cuales están asociadas por algún tipo de interacción de electrones, diferente a un enlace covalente.

Copolímero. Polímero constituido por más de un tipo de monómero.

Densidad. Masa por volumen unitario de un material, por lo general en unidades de gr/cm^3 .

Disolvente. Líquido que disuelve otra o más sustancias para formar una disolución.

Difusión. Movimiento de los átomos dentro de un material.

Electrolito. Molécula que se separa en un catión y un anión cuando se disuelve en un solvente, usualmente agua.

Emulsión. Mezcla en la cual dos sustancias inmiscibles, como el agua y el aceite permanecen unidas entre sí gracias a una tercera sustancia llamada emulsificante. El aceite es estabilizado en el agua ocluyéndose en el centro de la micela. De esa forma, el agua y el aceite permanecen mezclados.

Enlace covalente. Unión de dos átomos cuando ambos comparten un par de electrones.

Entrecruzamiento. Se produce cuando cadenas poliméricas individuales se unen entre sí por medio de enlaces covalentes, para formar una única molécula gigante.

Enlace por puente de hidrógeno. Fuerte interacción atractiva entre un átomo de hidrógeno unido a un átomo electronegativo y un átomo electronegativo unido generalmente a otra molécula.

Estéricas. Moléculas sin capacidad de reaccionar.

Enzimas. Moléculas grandes, polímeros de variable complejidad.

Fase continúa. Es el medio en el cual la fase dispersa está suspendida.

Fase dispersa. Se refiere a un sistema en el cual una sustancia está distribuida en unidades discretas a través de una segunda sustancia (fase continua).

Hidrólisis. Rompimiento de moléculas en agua.

Ion. Átomo o molécula que tiene una carga eléctrica positiva o negativa.

Monómero. Molécula pequeña que puede reaccionar químicamente para unirse con otras moléculas del mismo tipo, formando una gran molécula llamada polímero.

Movimiento browniano. Cuando en un líquido existen partículas en suspensión se observa que éstas muestran un movimiento aleatorio e impredecible producido por las colisiones de las moléculas del líquido contra las partículas suspendidas en él.

Plástico. Material formado por macromoléculas de compuestos orgánicos de obtención sintética.

Proteínas. Son polímeros que se encuentran en organismos vivos. Sirven como materiales estructurales del cuerpo y son fundamentales para la mayoría de los procesos vitales.

Radical libre. Átomo u grupo de átomos que poseen un electrón sin pareja, o sea, libre.

Temperatura de degradación. Temperatura por encima de la cual un polímero se quema, carboniza o descompone.

SopORTE. Sustancia inerte que en un proceso proporciona la adecuada superficie de contacto.

Sustrato. Reactivo involucrado en la reacción.

Transición térmica. Cambio que tiene lugar en un material cuando es calentado o enfriado, como por ejemplo la fusión, la cristalización o la transición vítrea.

Transición vítrea. Transición térmica de los polímeros, exclusiva de sus regiones amorfas, en las que pasan de su estado vítreo a su estado gomoso. A nivel molecular, la transición vítrea define la temperatura (o intervalo de temperaturas) a partir de la cual los segmentos que constituyen la cadena comienzan a tener una gran libertad de rotación interna.

Viscosidad. Propiedad que todo fluido real presenta cuando se resiste al movimiento relativo de cualquiera de sus partes por acción de una fuerza.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

En el presente capítulo se plantean el objetivo general, los objetivos específicos, el alcance y la hipótesis llevados a cabo en el desarrollo del presente trabajo.

1.1. Generalidades

Los biomateriales son el mejor ejemplo de materiales híbridos orgánico-inorgánico. En los materiales híbridos la parte orgánica tiende a mejorar la adhesión; mientras que la parte inorgánica tiende a incrementar la dureza. Como regla general el comportamiento de estos nanocompositos orgánico-inorgánico depende de la naturaleza y contenido relativo de los constituyentes orgánicos e inorgánicos (Sánchez, 1994).

El buen desempeño de estos novedosos materiales ha permitido su aplicación como biomateriales. Los cuales están diseñados para la recuperación, aumento o reemplazo de las funciones naturales de tejidos vivos u órganos del cuerpo humano. Los biomateriales presentan aplicaciones específicas como sistemas de: liberación controlada de sustancias biológicas o farmacéuticas dentro del organismo vivo, parches de aplicación biomédica y soportes para el crecimiento del tejido celular. Los biomateriales son elaborados a partir de diversos materiales principalmente de polímeros sintéticos y naturales.

El quitosano (QT) es un polímero natural, el cual se obtiene de la desacetilación parcial de la quitina, que a su vez se extrae de los crustáceos, hongos e insectos. El quitosano tiene un gran potencial como biomaterial debido a que es biodegradable, biocompatible y no tóxico, además de bajo costo (Fwo-Long, 2002), en la regeneración de tejido cutáneo presenta varias ventajas debido a que puede actuar como agente hemostático, inhibe la formación de cicatrices, acelera el proceso de curación y reduce la sensación de dolor. Sin embargo, las películas de quitosano no tienen propiedades mecánicas apropiadas pues son rígidas y quebradizas.

Por otro lado el SiO₂, a través del proceso Sol-Gel es un material que presenta excelentes propiedades mecánicas como: alta dureza, alta porosidad y estabilidad térmica, además de que por este proceso se pueden preparar materiales a temperaturas bajas con un alto grado de homogeneidad. Por lo anterior en el presente trabajo se describe la obtención de un material híbrido QT-SiO₂ estudiando en él la influencia que produce la concentración de quitosano, el tiempo de exposición y la temperatura de inmersión.

1.2. Objetivos

Los objetivos principales de este trabajo se mencionan a continuación.

1.2.1. Objetivo general

Obtener un material híbrido a base de Quitosano-SiO₂, a partir de diferentes concentraciones de QT en ácido acético, temperatura y tiempo de inmersión.

1.2.2. Objetivos específicos

- a).- Sintetizar la matriz de SiO₂ usando como precursor orgánico el tetraetilortosilicato mediante el proceso Sol-Gel.
- b).- Insertar el Quitosano en la matriz de SiO₂ para obtener un material híbrido valorando la influencia de la concentración de QT, temperatura y tiempo de inmersión.
- c).- Estudiar el material híbrido obtenido, valorando los efectos de difusión e interacción de los grupos funcionales de Quitosano-SiO₂.

1.3. Justificación

En la Ciencia y Tecnología de Polímeros se están realizando continuos avances entre los cuales participan interdisciplinariamente físicos, matemáticos, ingenieros, arquitectos y químicos. Estos avances han permitido que muchos polímeros hayan dejado de tener un interés puramente académico, al innovar nuevos métodos sintéticos, que disminuyen el costo inicial, factor limitante para su empleo en áreas especiales.

Por otra parte, la producción de quitina y el quitosano está basada principalmente en los desechos de camarón y cangrejo a través de industrias localizadas principalmente en Estados Unidos y Japón. En México, los desechos de camarón se arrojan a la basura, a los ríos y lagos, creando focos de infección y causando daño al medio ambiente, sin considerar que representa un gran potencial comercial (Cervantes, 1999).

El QT es un material de gran importancia por su amplia aplicación en química, bioquímica y el área biomédica. Actualmente el quitosano y sus formas derivadas son empleadas con éxito en diversos ámbitos de la medicina, debido a sus propiedades antimicrobianas, su histocompatibilidad, su capacidad de retención de humedad y de liberación controlada de sustancias así como por sus propiedades mecánicas (elasticidad), las moléculas de quitosano forman parte de vendajes, lentes de contacto, gotas oftalmológicas, cremas y recubrimientos para

quemaduras, heridas y úlceras, suturas quirúrgicas reabsorbibles, implantes y cultivos de tejido, entre muchas otras aplicaciones (Balasa, 1984).

Una de las aplicaciones más importantes del quitosano en el área de la medicina y la biotecnología es la inmovilización de enzimas, para esta finalidad los materiales seleccionados deben de presentar propiedades específicas como son; procurar que se incremente la afinidad por el sustrato, disminuya la inhibición, amplíe el intervalo de pH óptimo y reduzca las posibles contaminaciones microbianas; además el soporte debe tener una resistencia mecánica adecuada a las condiciones de operación y ser fácilmente separable del medio líquido para que pueda ser reutilizado.

Se han utilizado una gran variedad de materiales como soporte para la inmovilización de enzimas. Estos materiales difieren en tamaño, densidad, porosidad y forma aunque generalmente se encuentran en forma de cilindro, hojas, fibras, esferas, y tabletas. Los soportes pueden ser inorgánicos como: arcillas, bentonita, piedra pómez, sílice, óxidos de metales, vidrio de tamaño de poro controlado, alúmina, cerámicas y gel de sílice ú orgánicos como: celulosa, almidón, alginatos, quitina, quitosano, polímeros acrílicos y poliamidas (Martinek, 1987).

Debido a que el SiO_2 y el quitosano son materiales que reúnen grandes ventajas para lo descrito anteriormente, en el presente trabajo se reporta la obtención de materiales híbridos a base de QT- SiO_2 tratando de encontrar las condiciones óptimas para su posterior aplicación como soportes en la inmovilización de enzimas. Por su parte el quitosano cubre las necesidades biológicas indispensables para las enzimas y el polímero inorgánico provee el soporte rígido y de protección al sistema.

1.4. Alcance

En el presente trabajo de investigación se plantea la obtención de materiales híbridos a partir de un material inorgánico (SiO_2) y un polímero orgánico natural (quitosano) con características específicas. La síntesis del material inorgánico se realizará mediante el proceso Sol-Gel para obtener formas específicas a las que llamaremos monolitos, por otro lado se incorporarán diferentes concentraciones del polímero natural (quitosano) para estudiar el efecto de adsorción dependiente del tiempo de inmersión y temperatura. La relevancia de este trabajo es obtener el material híbrido con una alta homogeneidad sobre todo si se piensa en aplicaciones como soportes para inmovilizar enzimas en áreas como biotecnología, ingeniería química y medicina.

1.5. Hipótesis

En este trabajo se estudiarán algunos efectos del biopolímero quitosano sobre el monolito de SiO_2 , de tal manera que se pretende formar un material híbrido por ambos elementos. Esto mediante el estudio de algunas variables de respuesta tales como concentración de quitosano en ácido acético, temperatura y tiempo de inmersión. Por lo cual se esperaría que a medida que se incrementa la concentración de QT, mayor tiempo de inmersión y temperatura, la cantidad de adsorción del quitosano será mayor.

CAPÍTULO 2. MARCO TEORICO

En el presente capítulo se abordarán los conceptos y fundamentos teóricos más importantes sobre polímeros híbridos Quitosano-SiO₂.

2.1. Polímeros

Es importante definir algunos conceptos básicos para comprender el desarrollo de éste trabajo.

2.1.1. Polímeros / monómeros

La materia está formada por moléculas que pueden ser de tamaño normal o moléculas gigantes llamadas polímeros. Los polímeros abarcan materiales tan diversos como los plásticos, el hule o caucho y los adhesivos, son moléculas orgánicas gigantes en cadena, con pesos moleculares desde 10,000 hasta más de 1,000,000 g/mol (Donald R. Askeland, 2001).

Los polímeros se producen por la unión de cientos de miles de moléculas pequeñas denominadas monómeros que forman enormes cadenas. Algunas parecen fideos, otras tienen ramificaciones, y otras son como redes tridimensionales.

2.1.2. Clasificación de polímeros

Los polímeros se clasifican: según su origen, su composición y según sus propiedades físicas tal como se muestra a continuación.

2.1.2.1. Según su origen

Los polímeros según su origen, se clasifican en: Naturales y Sintéticos.

a).- Polímeros Naturales

Son sustancias obtenidas de la naturaleza que no sufren modificación. Entre los polímeros naturales figuran las proteínas, los ácidos nucleicos, la celulosa (polisacáridos) y el caucho (poliisopreno). El ARN (ácido ribonucleico) y ADN (ácido desoxirribonucleico), vitales en genes y en los procesos de la vida. El ácido ribonucleico mensajero es el que hace posible la existencia de las proteínas, los péptidos y las enzimas. Las enzimas colaboran en la química interior de los

organismos vivos y los péptidos conforman algunos de los componentes estructurales más interesantes de la piel, el cabello e inclusive los cuernos de los rinocerontes. Entre otros polímeros naturales se encuentran incluidos los polisacáridos (azúcares) y los polipéptidos como la seda, y la queratina. El caucho natural es también un polímero natural, constituido sólo por carbono e hidrógeno (Hart, 1995).

Entre la familia de polisacáridos se incluye al almidón y la celulosa. El almidón es un polisacárido de alto peso molecular. Alimentos como el pan, el maíz y las papas se encuentran llenos de almidón. El almidón puede tener hasta 10,000 unidades de azúcar unidas entre sí. El modo en que se encuentran enlazadas estas unidades, ya sea en forma lineal o con ramificaciones, determina el tipo de almidón o polisacárido. Otro importante miembro de la familia de los polisacáridos es la celulosa, el cual es el polímero principal constituyente de las plantas y los árboles. El algodón es una forma de celulosa que empleamos en casi toda nuestra ropa. El hecho de que sea insoluble en agua caliente es importante.

Otro miembro de los polisacáridos es la quitina. Constituye el caparazón de los langostinos, camarones, cangrejos, langostas de mar y otros crustáceos. Es rígida, insoluble y en cierto modo flexible. La quitina se ha empleado con éxito en campos tan diversos como el farmacéutico, médico, la industria alimentaria, procesadora de efluentes y la agricultura, por mencionar algunos.

Mucho antes de que existieran los plásticos y los polímeros sintéticos, remontándonos a los orígenes de la tierra, la naturaleza se valía de los polímeros naturales para hacer posible la vida. No pensamos en los polímeros naturales de la misma manera que lo hacemos con los polímeros sintéticos, porque no podemos adjudicárnoslos como maravillas de nuestra propia ingenuidad y las compañías químicas no los pueden vender en busca de grandes ganancias. Sin embargo, eso no hace que los polímeros naturales sean menos importantes; de hecho, en muchos sentidos, son más importantes.

b).- Polímeros Sintéticos

Los polímeros sintéticos, conocidos como plásticos y cauchos, son la base de nuevos tipos de materiales estrechamente relacionados con la vida del hombre. Desde 1930 hasta nuestros días, el desarrollo de este tipo de materiales poliméricos ha hecho que la velocidad de crecimiento de su producción y consumo haya superado ampliamente a la de otros materiales

convencionales. Así, el empleo de los polímeros compite ventajosamente frente a materiales tales como los metales, la madera, el vidrio, el cuero, etc. debido a sus múltiples posibilidades de aplicación, fiel reflejo de la facilidad que ofrecen al diseño de nuevas composiciones con propiedades muy variadas. En cuanto a las materias primas necesarias debe señalarse que en la actualidad, la industria petroquímica es la base fundamental para la producción de monómeros, que son las unidades constituyentes de los polímeros. Algunos ejemplos conocidos son el etileno, cloruro de vinilo, estireno, acetileno y el acrilonitrilo, que se obtienen a partir de fracciones del petróleo, o por operaciones de craqueo del mismo. Estas moléculas sencillas se transforman en polímeros, que son agrupaciones de moléculas de gran tamaño. La variedad de propiedades físicas y químicas de estos compuestos sustentan la amplia gama de aplicaciones posibles, en campos tan diversos como construcción, embalaje, automoción, agricultura y medicina.

Como consecuencia de la gran demanda de este tipo de productos, la investigación en este campo se mantiene desde hace décadas a un alto nivel. Actualmente, el esfuerzo se está dirigiendo, sobre todo, al diseño de nuevos monómeros y al estudio de las propiedades de los polímeros derivados de ellos. El gran número de publicaciones científicas relacionadas con investigaciones teóricas y experimentales sobre las reacciones de polimerización y las propiedades de los materiales obtenidos, refleja la relevancia que ha adquirido el estudio de los polímeros en las ciencias experimentales. Los polímeros sintéticos son creados por el hombre y se dividen en:

1).- Termoplásticos. El nombre proviene de que son deformables (plásticos) a temperaturas lo suficientemente altas, al enfriarse recuperan sus propiedades originales, siendo a temperaturas normales rígidos. Se componen de largas cadenas producidas al unir moléculas pequeñas o monómeros y típicamente se comportan de manera plástica y dúctil (Donald R. Askeland, 2001). En general son polímeros lineales con bajo punto de fusión y solubles en disolventes orgánicos. Los polímeros termoplásticos son rígidos por debajo de la temperatura de transición vítrea (T_g) y deformables por encima de esta temperatura. Estos polímeros se pueden reciclar fácilmente.

2).- Termoestables. Son aquellos que después de calentarse se convierten en sólidos más rígidos que los polímeros originales. Esta característica se debe normalmente a un entrecruzamiento de

sus cadenas poliméricas, suelen ser insolubles en disolventes orgánicos y se descomponen a temperaturas elevadas (Seymour, 1990).

Estos polímeros generalmente son más resistentes, aunque más frágiles, que los termoplásticos. Los termoestables no tienen una temperatura de fusión fija y es difícil procesarlos una vez ocurrida la formación de enlaces cruzados.

2.1.2.2. Según su composición

Los polímeros se clasifican según su composición en: orgánicos, inorgánicos e híbridos.

a).- Polímeros Orgánicos

Los polímeros orgánicos son enormes estructuras basadas en una cadena de carbono, formada por unidades llamadas monómeros que se repiten indefinidamente, se habían considerado materiales de gran utilidad, frecuentemente gracias a su bajísima conductividad eléctrica que permitía utilizarlos como aislantes eléctricos.

En la actualidad uno de los desafíos más importantes de la química orgánica es la obtención de estructuras poliméricas que sean capaces de conducir la electricidad, de manera que se puedan incorporar en dispositivos electrónicos, circuitos eléctricos como los cables de la luz, etc. El éxito de este desafío involucra actualmente a cientos de laboratorios de todo el mundo, dedicados a la síntesis y caracterización de este tipo de estructuras.

La aplicación de los polímeros orgánicos ha ido aumentando hasta tal punto que prácticamente cualquiera de los utensilios que utilizamos está compuesto, al menos en alguna de sus partes, si no en su totalidad, por estos materiales. Así, la construcción, la alimentación, la medicina o la industria textil, por citar sólo algunos sectores, hacen un uso generalizado de este tipo de materiales, debido a que es posible preparar materiales bien definidos para su aplicación.

b).- Polímeros Inorgánicos

Los polímeros inorgánicos son aquellos polímeros que no poseen átomos de carbono en su cadena principal. Algunos ejemplos de ellos es la silicona. Este polímero es muy común y su estructura se muestra en la Figura 2.1.

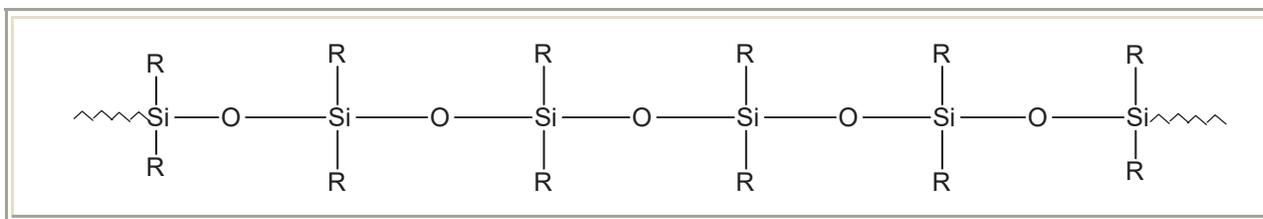


Figura 2.1. Estructura de un polímero inorgánico de silicona.

El enlace entre el silicio y el oxígeno es muy fuerte, pero flexible. Por lo tanto las siliconas pueden soportar altas temperaturas sin descomponerse, pero presentan muy bajas temperaturas de transición vítrea.

Los polisilanos (PS's) son aquellos que se derivan del silicio y tienen las mismas propiedades del carbono para formar largas cadenas poliméricas, y son capaces de conducir la electricidad, aunque no como el cobre. También son muy resistentes al calor, hasta una temperatura de 300 °C, pero si se calientan un poco más puede producirse carburo de silicio (CS) el cual es un material abrasivo muy útil. Los primeros polisilanos que se empezaron a desarrollar (Ureta, 1989) formaban cristales de alta dureza difíciles de disolver y al calentarse por encima de 250 °C se descomponían sin fundirse, haciendo del polidimetilsilano (PDS) un producto no viable. Por lo que se hizo reaccionar el sodio metálico con diclorometilsilano (DMS); adicionando a la mezcla bajas cantidades de diclorometilfenilsilano (DMFS) obteniéndose el copolímero de la Figura 2.2.

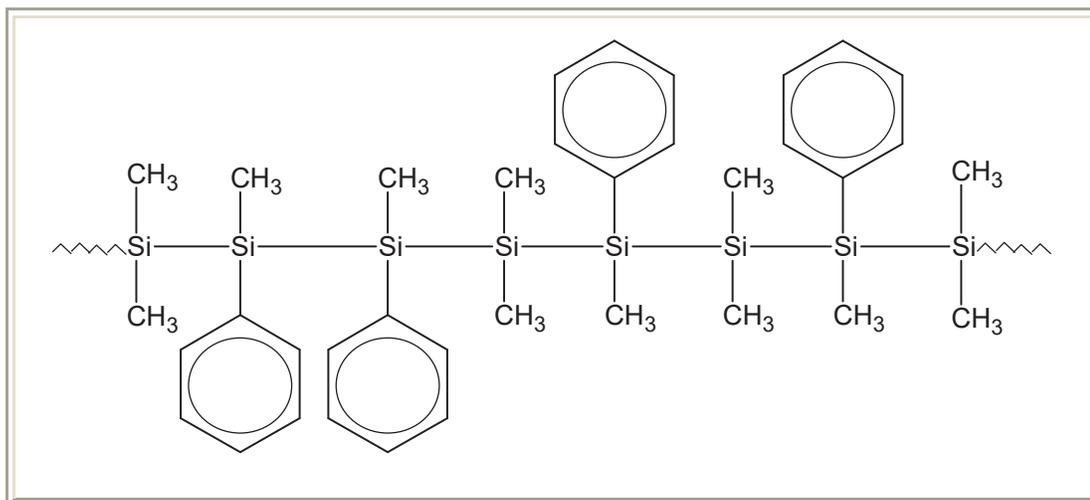


Figura 2.2. Formación de un copolímero mediante la agregación del DMFS.

Los grupos fenilos que se encuentran en la cadena polimérica, entorpecen el proceso de cristalización, disminuyendo el grado de cristalinidad. Esto significa que el copolímero formado a partir DMS es mucho más soluble y más fácil su proceso y manipulación.

Los materiales en estado sólido se clasifican en cristalinos, amorfos o semicristalinos. En los cristalinos, los átomos adoptan arreglos ordenados y repetitivos; formando estructuras tridimensionales periódicas, un ejemplo clásico son los metales y sus aleaciones. En los amorfos no existe un ordenamiento periódico; el vidrio y algunos materiales plásticos como el poliestireno son ejemplos más comunes. Los semicristalinos presentan una parte amorfa y otra cristalina, por ejemplo el polietileno y el polipropileno son algunos ejemplos típicos (Reyes y col. 2000).

El dióxido de silicio (SiO_2), presenta una estructura amorfa o cristalina, según sea tratado térmicamente. La estructura del vidrio es similar a la de un líquido, no existe un arreglo definido. En el vidrio, el silicio es parte de la materia prima básica; el vidrio de sílica puro es más duro y más difícil de trabajar. Tiene una gran estabilidad y su temperatura de reblandecimiento es del orden de los 1500°C . Soporta temperaturas hasta de 900°C durante tiempo prolongado.

El silicio es un semiconductor; su resistividad a la corriente eléctrica a temperatura ambiente varía entre la de los metales y la de los aislantes. La conductividad del silicio puede controlarse añadiendo pequeñas cantidades de impurezas llamadas dopantes. La capacidad de controlar las propiedades eléctricas del silicio y su abundancia en la naturaleza han posibilitado el desarrollo y aplicación de los transistores y circuitos integrados que se utilizan en la industria electrónica.

Los materiales nanoestructurados basados en silicatos son de particular interés en la ciencia de los materiales, especialmente cuando se requieren armazones moleculares altamente porosos, como es el caso de los catalizadores, electrolitos sólidos, materiales de soporte para aplicaciones ópticas y magnéticas (Martínez y col. 2002). Es obvia la importancia de los vidrios silicatos. Estos vidrios son altamente polimerizados y tienen como característica distintiva ser altamente inertes, resistentes a la corrosión, transparentes y se emplean en óptica.

c).- Polímeros Híbridos

Los polímeros presentan diferentes propiedades físicas y químicas, algunos son duros, otros son blandos. Dos polímeros se pueden combinar con diferentes propiedades para obtener un nuevo material con las propiedades de ambos por separado. Los materiales híbridos son los que estructuralmente tienen una parte orgánica y una inorgánica. La naturaleza sintetiza muchos de estos materiales. Los biocompuestos son el mejor ejemplo de materiales híbridos orgánico-inorgánico que se generan por biomineralización. Ejemplos típicos de éstos materiales son los huesos, los dientes, conchas de animales y algún caso de hojas y tallo en plantas, en los que una matriz orgánica polimérica está reforzada por un depósito inorgánico, quizá el más notable es el hueso, que reúne cualidades como dureza y rigidez que no se encuentran en ningún material sintético. En el mundo animal, se encuentran las conchas de los moluscos que se destaca por su dureza a la fractura. Estas consisten en capas alternativas de aragonito (polimorfo del carbonato cálcico) y matriz inorgánica, generando una de las estructuras más duras del mundo natural.

Para la formación de nuevos materiales híbridos se propone incorporar tanto moléculas orgánicas discretas (aminoácidos, complejos metálicos) como polímeros (biopolímeros como quitina, quitosano, etc.) y polímeros sintéticos (polietilamina, acrilamida, etc.) en matrices inorgánicas. Estas últimas corresponden principalmente a redes de sílica (SiO_2), titania (TiO_2), magnesia (MgO) y mixtas (sílica/titania) generadas a baja temperatura mediante procesos sol-gel. En trabajos recientes se ha encontrado que la formación de enlaces de hidrógeno entre grupos silanol (Si-OH) de redes de sílica y grupos amino y/o amida de la fase orgánica, permite que se produzca una buena compatibilización entre ambas fases. A partir de los diferentes comportamientos que presentan los polímeros híbridos, éstos pueden clasificarse según el control de la escala de longitudes a través de la química como:

a) Clase I. Modificadores de red, en los cuales el polímero orgánico simplemente se encuentra inmerso en la red inorgánica. No existen enlaces covalentes entre ambas fases, sólo interacciones débiles tales como fuerzas de Van der Waals o enlaces de hidrógeno.

b) Clase II. Formadores de red, en los cuales la parte orgánica y la inorgánica establecen enlaces covalentes o ion-covalentes. Los materiales híbridos que incorporan alcoxilanos funcionalizados son un ejemplo de esta clase de híbridos.

Una clasificación más específica enfocada a los derivados de la sílice, se indica a continuación (Mackenzie, 1992).

TIPO A.- Moléculas orgánicas atrapadas: ejemplo, un colorante o pigmento se mezcla en la solución Sol-Gel, resultando un gel moldeado como lámina que presenta nuevas propiedades ópticas, mecánicas o químicas. Sin embargo, debido a la baja estabilidad térmica de las moléculas orgánicas (200-300°C), la red de sílice permanece porosa y contiene gran cantidad de grupos OH y disolventes, por lo que la red continúa su evolución estructural.

TIPO B.- Moléculas orgánicas impregnadas. Es una forma de aprovechar la porosidad de los geles de sílice, en lo referente a su interconectividad de poros, el control de su tamaño y su distribución para utilizarlos en albergar moléculas orgánicas. Así como también la interacción entre ambas fases originando en muchas ocasiones materiales altamente transparentes.

TIPO C.- Orgánico-inorgánico enlazados químicamente; en este caso las partes orgánica e inorgánica se encuentran enlazadas por medio de enlaces covalentes o ion-covalentes similar a la clase II. Dicho enlace actúa mejorando sus propiedades mecánicas. Uno de los sistemas más utilizados es en el cual se usan polímeros con terminaciones de radicales silanol (PDMS-silicona) como parte orgánica y un alcóxido de silicio (TMOS o TEOS) como parte inorgánica.

En la actualidad los materiales híbridos aprovechan las ventajas que les brinda el proceso Sol-Gel, dichas ventajas son: empleo de precursores metal orgánicos, disolventes orgánicos y baja temperatura de proceso, con las características específicas de los polímeros orgánicos, como sus partes hidrofóbicas/hidrofílicas, reacciones electroquímicas, control de porosidad y entrecruzamiento entre cadenas.

2.1.2.3. Según sus propiedades físicas

Los polímeros según sus propiedades físicas se dividen en: fibras, elastómeros, plásticos y adhesivos.

a).- Fibras. Las fibras son estructuras unidimensionales, largas y delgadas. Se doblan con facilidad y su propósito es la creación de tejidos. Los polímeros útiles como las fibras son los que presentan un alto grado de cristalinidad y una fuerte interacción de cadenas adyacentes, ésta orientación incrementa la fuerza tensil. Su temperatura de transición vítrea (T_g) y su punto de fusión son muy importantes en las fibras, una temperatura de transición vítrea demasiado baja dificulta el estiramiento, y por lo tanto, la orientación de la fibra y, si es demasiado baja, la orientación no se mantiene a temperatura ambiente. El punto de fusión debe estar por encima de los 200°C , ya que el polímero después se moldea.

b).- Elastómeros. Incluyendo al caucho estos polímeros tienen una estructura intermedia, en la cual se permite que ocurra una ligera formación de enlaces cruzados entre las cadenas. Tienen la capacidad de deformarse elásticamente en grandes cantidades sin cambiar de forma permanentemente.

c).- Plásticos. Son polímeros o resinas que han sido moldeados, por lo general son elaborados a cierta presión. Pueden ser termoplásticos o termoestables y presentan una amplia gama de propiedades que se encuentran entre la de los elastómeros y las fibras. Los plásticos presentan diferentes propiedades mecánicas, de las cuales se destacan dos: la elongación a la ruptura y la fuerza tensil límite.

d).- Adhesivos. Son polímeros que se utilizan para unir otros polímeros, metales, materiales cerámicos, compuestos o combinaciones de todos los anteriores. Los adhesivos según su naturaleza se dividen en: naturales y sintéticos. Los naturales cada vez se utilizan menos, su base son los productos naturales; los sintéticos son muy utilizados sobre todo en la industria.

2.1.3. Procesos de polimerización

La polimerización es el proceso mediante el cual moléculas más pequeñas se unen para crear moléculas gigantes.

2.1.3.1. Polímeros Orgánicos

Los procesos de polimerización que podemos encontrar para los polímeros orgánicos son: Polimerización por suspensión, solución, emulsión y masa.

a).- Polimerización en suspensión. La polimerización se realiza en agua, y como el monómero y el polímero que se obtiene de él son insolubles en agua, se obtiene una suspensión. Para evitar que el polímero se aglomere en el reactor, se disuelve en el agua una pequeña cantidad de agente de suspensión, el cual cubre la superficie de las gotitas del polímero y evita que se peguen.

b).- Polimerización en solución. Además del monómero y del iniciador, se emplea un disolvente, formando un sistema homogéneo. El solvente ideal debe ser de bajo punto de ebullición y de fácil separación del polímero. La polimerización en solución se utiliza principalmente cuando se desea aplicar la propia solución polimérica, y se emplea bastante en policondensación.

c).- Polimerización en emulsión. La reacción se realiza en agua, con iniciadores solubles en agua y se añade un emulsificante, que puede ser un detergente o un jabón. En esas condiciones el monómero se emulsifica, es decir, forma gotitas a nivel micras.

d).- Polimerización en masa. En este tipo de reacción, los únicos reactivos son el monómero y el iniciador. El polímero que se obtiene es muy semejante al de suspensión, pero es más puro que éste y tiene algunas ventajas en la adsorción de aditivos porque no está contaminado con el agente de suspensión.

2.1.3.2. Polímeros Inorgánicos (Sol-gel)

El método sol-gel es un proceso químico utilizado en la producción de diversos materiales, debido a su versatilidad pueden obtenerse fibras, monolitos, recubrimientos, nanoesferas y microsferas.

Un sol es una dispersión de partículas coloidales en un líquido donde las partículas son suficientemente pequeñas para permanecer suspendidas por movimiento Browniano. Las partículas coloidales son partículas sólidas con diámetros de 1-100 nanómetros (10^{-9} m). Un gel es un sólido consistente de al menos dos fases donde una fase sólida forma una red rígida e

interconectada con poros del orden de submicrones ($< 10^{-6}$ m), que atrapa e inmoviliza a una fase líquida, y cadenas poliméricas cuya longitud promedio es mayor que un micrómetro (Iler, 1979).

Se le llama proceso sol-gel al proceso en el cual una solución o sol se somete a una transición sol-gel, en esta transición, la solución se convierte en una masa rígida y porosa mediante desestabilización, precipitación o supersaturación. En el proceso la solución o precursor puede incluir alcóxidos metálicos, soluciones salinas metálicas, y otras soluciones conteniendo complejos metálicos. Los precursores más comúnmente utilizados en los procesos sol-gel son los alcóxidos metálicos. La mayoría de los alcóxidos metálicos pueden reaccionar fácilmente con el agua a través de una serie de pasos de hidrólisis y condensación hasta conducir a un oxi-hidróxido metálico amorfo, el alcohol producido por la hidrólisis es fácilmente removido durante el proceso. Un ejemplo particular de un proceso sol-gel involucra el sistema tetraetilortosilicato (TEOS), $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$, etanol y agua. Esta es una solución de una fase que se somete a una transición sol-gel para formar un sistema rígido de dos fases: sílica sólida (SiO_2) y solvente contenido en los poros de la sílica (Martínez, 1999).

El producto de las transiciones sol-gel se conoce como alcogel. Después de la transición sol-gel, la fase solvente se remueve de los poros de la red interconectada. Si se remueve mediante un tratamiento térmico convencional, el resultado es un xerogel. Si se remueve a través de evacuación supercrítica, el resultado es un aerogel (Teicher y col. 1976). La remoción del solvente, de los poros del alcogel, tiene efectos dramáticos en las propiedades del producto final. Los aerogeles tienen baja densidad y son muy buenos aislantes térmicos y acústicos cuando son colocados entre placas de vidrio (Yoldas 1975). Los xerogeles son más densos que los aerogeles, tienen un área superficial grande y son a menudo microporosos; estos pueden utilizarse como soporte de catalizadores, conductor iónico y como precursor para una gran variedad de vidrios, cerámicas, recubrimientos y fibras, dependiendo del método de preparación.

El proceso sol-gel presenta muchas ventajas cuando se compara con la ruta convencional entre las cuales se encuentran:

- a) Control de la pureza de los reactivos, del grado de homogeneidad de la mezcla de precursores, y de la microestructura (uniformidad y distribución de tamaños de partículas).

- b) La posibilidad de fabricación en formas útiles no tradicionales (fibras, películas delgadas, burbujas, elementos ópticos, etc.) con propiedades muy controladas.
- c) Otra importante innovación que aporta el procedimiento sol-gel es la de poder preparar a temperaturas bajas, materiales muy puros, con alto grado de homogeneidad, que no siempre pueden conseguirse por los métodos tradicionales.

2.2. Transiciones térmicas de los polímeros

Una transición térmica es el cambio que presenta un material cuando es calentado o enfriado. Las transiciones térmicas son: temperatura de transición vítrea, temperatura de fusión y temperatura de degradación.

2.2.1. Temperatura de transición vítrea (T_g)

La temperatura de transición vítrea ocurre cuando las cadenas poliméricas abandonan sus estructuras cristalinas y se transforman en un líquido desordenado. La transición vítrea es la que se manifiesta en los polímeros amorfos; es decir cuyas cadenas no están dispuestas según un ordenamiento cristalino, sino que se encuentran esparcidas en cualquier ordenamiento, aún en estado sólido. Incluso los polímeros cristalinos tienen alguna porción amorfa. Esta porción generalmente constituye el 40-70% de la muestra polimérica. Esto explica por qué una misma muestra de un polímero puede tener tanto una T_g como T_m .

2.2.2. Temperatura de fusión (T_m)

Cuando un polímero cristalino se funde, ocurren dos procesos: absorbe una cierta cantidad de calor, el calor latente de fusión y experimenta un cambio en su capacidad calorífica. Cualquier cambio debido al calor, ya sea fusión o congelamiento, ebullición o condensación, que involucre un cambio en la capacidad calorífica y un calor latente, se denomina transición de primer orden.

Cuando se incrementa la temperatura de un polímero amorfo hasta su T_g y si la temperatura sigue aumentando, no se detiene. No hay calor latente de transición vítrea. La temperatura sigue aumentando, pero por encima de la T_g , ya no lo hace a la misma velocidad que por debajo. El polímero experimenta un incremento en su capacidad calorífica luego de alcanzar

la T_g . Puesto que la transición vítrea involucra un cambio en la capacidad calorífica pero no un calor latente, esta transición se denomina transición de segundo orden.

En la Figura 2.3a se muestra lo que ocurre cuando se calienta un polímero 100% cristalino. Se observa una discontinuidad, justo donde se marca la ruptura, siendo esta la temperatura de fusión. En ese punto, se adiciona una gran cantidad de calor sin que provoque un aumento en la temperatura (calor latente de fusión). La pendiente se hace mayor una vez que se traspone la ruptura. Esta pendiente es equivalente a la capacidad calorífica, es decir, el aumento de la misma corresponde al aumento de capacidad calorífica por encima del punto de fusión.

En la Figura 2.3b se muestra lo que ocurre con un polímero 100% amorfo cuando es calentado, no se obtiene ninguna ruptura. El único cambio observado es en la temperatura de transición vítrea, en el cual se registra un incremento de la pendiente, lo que representa un aumento en la capacidad calorífica. Se observa también un cambio en la capacidad calorífica, en la T_g , pero no una ruptura, como se aprecia en el caso de un polímero cristalino. No existe calor latente involucrado en una transición vítrea, siendo simplemente la diferencia entre una transición de primer orden y una de segundo orden. Como la transición vítrea.

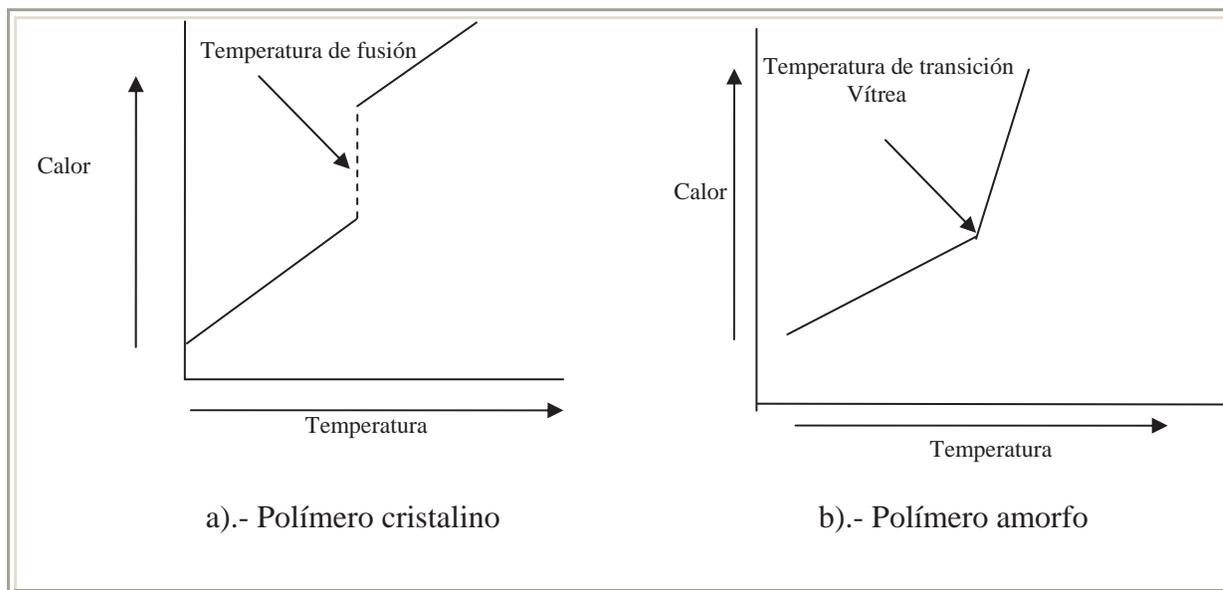


Figura 2.3. Gráficas de calor contra temperatura de los fenómenos que ocurren al calentar un polímero.

Una cadena polimérica que puede movilizarse fácilmente, tendrá una T_g muy baja, mientras que con bajos movimientos tendrá una T_g alta. Cuando más fácilmente pueda moverse un polímero, menor calor habrá que suministrarle para que las cadenas empiecen a contornearse para salir de un estado vítreo rígido y pasar a otro blando y flexible (Brandrup, 1989).

2.2.3. Temperatura de degradación

La temperatura de degradación es el valor de temperatura a la que un material se descompone, lo cual se hace notorio al observar un cambio de color o señales en su superficie. Diferentes compuestos orgánicos son susceptibles de degradación cuando su temperatura interna sobrepasa cierto límite, llamada temperatura de degradación.

2.3. Procesos de degradación

La degradación es un proceso dirigido a modificar la estructura del polímero para hacerlo más vulnerable, percedero y que desaparezca en forma de residuo. Los procedimientos de degradación previstos se basan en la acción de la luz (fotodegradación), en el calor (térmica), en la atmósfera (oxidativa), en la humedad (hidrolítica) y en los microorganismos (biodegradación). El primer efecto que causa la degradación es la disminución del peso molecular del polímero y en ocasiones aparece una reticulación en el mismo. En el proceso de la degradación de un polímero se observan variaciones tanto físicas como químicas. En las físicas se pueden citar la pérdida de brillo y color, la formación de grietas, la aparición de zonas pegajosas y endurecimiento con la consiguiente pérdida de las propiedades mecánicas. Los cambios químicos producidos van dirigidos fundamentalmente a la aparición de nuevos grupos funcionales que facilitan la ruptura de las cadenas macromoleculares (Brandrup, 1989). Existen diversos mecanismos de degradación como son: *Fotodegradación*; en el cual la mayoría de los materiales plásticos sufren un envejecimiento que va asociado una pérdida de sus propiedades cuando son sometidos durante largos períodos de tiempo a la radiación luminosa. *Biodegradación*; se ha comprobado que aquellos plásticos que han sufrido primeramente una fotooxidación, son vulnerables a ciertos microorganismos y a las enzimas generadas por éstos. *Degradación química*; implica la modificación estructural del material polimérico expuesto a determinadas condiciones como puede ser la luz, la temperatura en presencia o ausencia de oxígeno, los disolventes, los diferentes tipos de radiación y diversos microorganismos. *Degradación térmica*; se caracteriza por la

ruptura de enlaces químicos y, una vez que los enlaces químicos empiezan a romperse, se crean cadenas reactivas y radicales libres. La degradación térmica se puede clasificar en dos grupos: depolimerización o reacciones de ruptura en cadena y reacciones de sustitución o sin ruptura de cadenas. *Degradación mecánica*; comprende los fenómenos de fractura, así como los cambios químicos inducidos por esfuerzos mecánicos. Generalmente se refiere a efectos macroscópicos debidos a la influencia de esfuerzos cortantes, además de las rupturas de las cadenas del polímero.

2.4. Polímero natural Quitosano (QT)

Los biopolímeros son polímeros que son generados a partir de recursos naturales renovables, son frecuentemente biodegradables y no tóxicos. Estos pueden ser producidos por sistemas biológicos, o sintetizados químicamente a partir de materiales biológicos.

La mezcla de biopolímeros es uno de los métodos más efectivos para obtener nuevos materiales poliméricos con propiedades biológicas y mecánicas deseables. En la fabricación de estos materiales se debe considerar la compatibilidad de los biopolímeros a mezclar, pues las propiedades del producto dependen del tipo de interacción que exista entre éstos.

La característica primordial de estos biomateriales es que sean biológicamente inertes, es decir que no presenten respuesta inmunológica o daño celular donde se aplique, no ser tóxico, ni carcinógeno, ser químicamente estable (no presentar degradación con el tiempo) y tener propiedades mecánicas adecuadas. Para el desarrollo de estos biomateriales, es necesario considerar: el objetivo del material es decir su uso, reemplazo de una parte o miembro del cuerpo; resistencia del material a fluidos del cuerpo; propiedades mecánicas (resistencia, dureza, ductibilidad); la fuerza mecánica y dinámica del material que ejerce sobre los tejidos con los que está en contacto y debe pasar las pruebas de biocompatibilidad.

2.4.1. Aspectos generales

Por su amplia distribución en la naturaleza la quitina es el segundo polisacárido en abundancia, después de la celulosa. Fue descubierta por Branconnot en 1811 cuando estudiaba las sustancias derivadas del *Agaricus volvaceus* y otros hongos. Posteriormente Odier en 1923 reportó que había encontrado en algunos insectos la misma sustancia que forma la estructura de las plantas, llamándola quitina (del griego tunic, envoltura). Payen en 1943 inició una

controversia que duró más de cien años sobre las diferencias entre la quitina y la celulosa, en parte porque se pensaba que la presencia de nitrógeno reportada en algunas investigaciones se debía a residuos de proteínas que no podían ser completamente eliminados de las muestras.

El nombre sistemático de la quitina es $\beta(1-4)$ -2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa. Se encuentra principalmente en los caparazones de crustáceos y formando parte del exoesqueleto de los insectos, así como también en las paredes celulares de muchos hongos, levaduras y algas (Muzzarelli y col. 1993). La quitina es completamente insoluble en agua o en medio ácido. Su estructura química se muestra en la Figura 2.4.

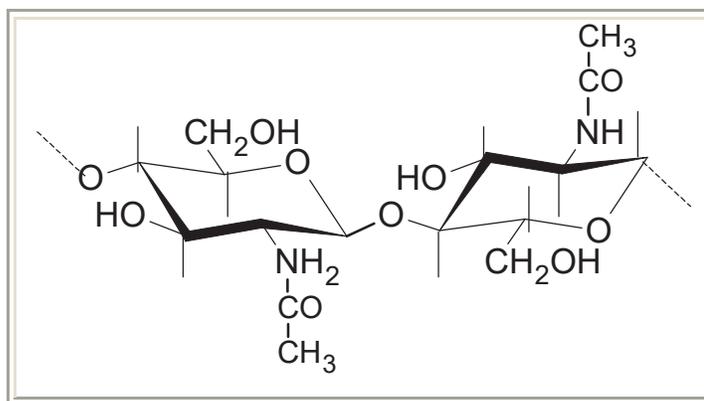


Figura 2.4. Unidad repetitiva de la estructura química de la quitina.

Por su parte, el quitosano es también un polisacárido que se encuentra en estado natural en las paredes celulares de algunos hongos; sin embargo, su principal fuente de producción es la hidrólisis de la quitina en medio alcalina, usualmente hidróxido de sodio o de potasio, a elevadas temperaturas (105 °C). (Parada, 2004). El quitosano fue descubierto por Rouget en 1859, quien encontró que al tratar la quitina con solución caliente de hidróxido de potasio se obtiene un producto soluble en ácidos orgánicos. Esta quitina modificada, como él la llamo, se tornaba de color violeta en soluciones diluidas de yoduro y ácido, mientras la quitina era verde. Más tarde, en 1894, fue estudiada por Hoppe-Seyler quién la denominó “quitosano” (conocida también como quitosana, chitosan en inglés). La Figura 2.5 muestra los pasos elementales para la obtención del quitosano.

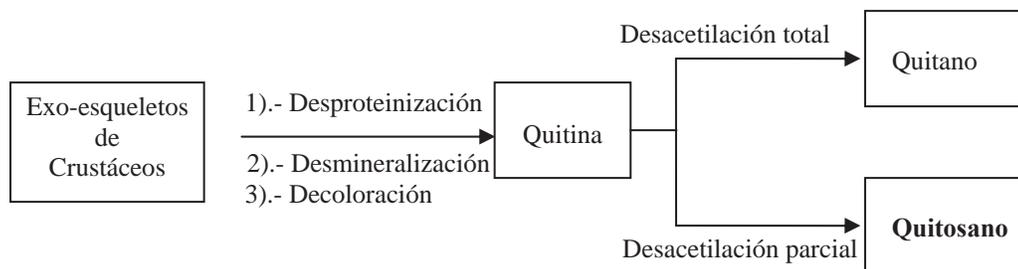


Figura 2.5. Proceso general para la obtención del quitosano.

La desacetilación completa de la quitina produce un material totalmente soluble en medio ácido conocido como quitano; sin embargo, cuando la desacetilación del material de partida es incompleta se crea una mezcla de cadenas que tienen distintas proporciones de unidades $\beta(1-4)$ -2-acetamido-2-desoxi-D.glucosa y $\beta(1-4)$ -2-amino-2-desoxi-D.glucosa, cuya relación depende de las condiciones de reacción y que, obviamente, genera materiales con distintas propiedades denominados quitosanos. La diferencia en las propiedades de estos materiales puede llegar a ser notable, como por ejemplo la distinta solubilidad en medio acuoso. La Figura 2.6 muestra las estructuras químicas del quitano y quitosano.

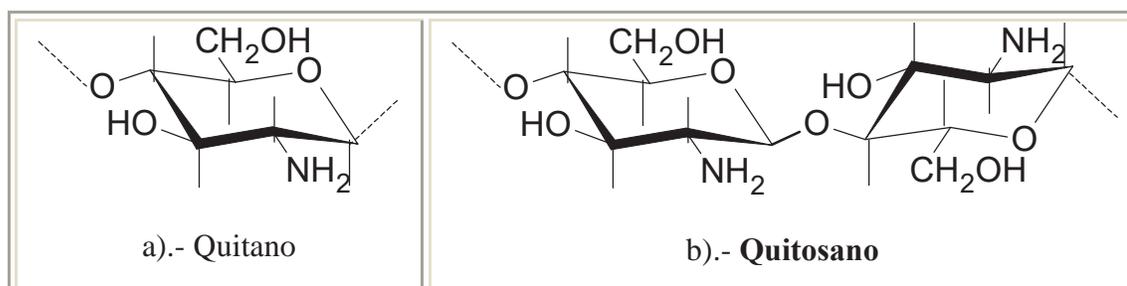


Figura 2.6. Unidad repetitiva de la estructura química de a). Quitano. b). Quitosano.

El quitosano se sintetiza por la remoción del grupo acetilo presente en la amida de la quitina. Este proceso provoca la formación de un grupo amino primario, el cual tiene carácter catiónico cuando se encuentra en soluciones ácidas acuosas, como consecuencia el quitosano es más reactivo que la quitina (Cervantes, 1999).

La presencia de grupos aminos en la cadena polimérica ha hecho del quitosano uno de los materiales más versátiles que se estudian desde hace ya algún tiempo, por la posibilidad de

realizar una amplia variedad de modificaciones, tales como las reacciones de anclaje de enzimas, reacciones de injerto, obtención de películas entrecruzadas, etc., de las cuales se obtienen materiales con propiedades adecuadas para aplicaciones inmediatas y futuras en biotecnología, biomedicina y agricultura por mencionar algunas. El quitosano puede ser obtenido con diferentes grados de acetilación y polimerización mediante la N-acetilación y la depolimerización ácida de macromoléculas nativas de quitina.

2.4.2. Propiedades del quitosano

El Quitosano presenta excelentes características físico-químicas, nivel de reactividad, propiedades de solubilidad y viscosidad, así como propiedades biológicas importantes.

2.4.2.1. Características físico-químicas

El quitosano se encuentra en tres estados físicos, las soluciones corresponden al estado físico más importante, como consecuencia, excepto la forma nativa, los estados sólidos y gel de quitosano son procesados a partir de soluciones. El quitosano tiene tres grupos funcionales reactivos, un grupo amino (C-2), grupos hidroxilos primario (C-6) y secundario (C-3). Es un polisacárido altamente básico y dentro de sus propiedades se incluye la formación de polioxisales, y gran habilidad para formar iones metálicos quelantes y películas (Austin y col. 1981). Los grupos amino desacetilados son responsables de la alta densidad de carga positiva del quitosano, lo cual hace soluble al biopolímero en sistemas acuosos. El carácter policatiónico del biopolímero es responsable de las interacciones de carga con superficies aniónicas, lo cual es crucial para las propiedades bioadhesivas del quitosano muy importantes en aplicaciones farmacéuticas y cosmetológicas (Domard, 2001).

La estructura química del quitosano permite importantes interacciones químicas, la naturaleza de éstas interacciones depende de dos parámetros, el grado de acetilación y el grado de ionización de sus grupos ionizables (amina e hidroxilos). Alcohol, amina, amida y otras funciones presentes en la estructura del quitosano pueden ser involucrados en la formación de enlaces de hidrógeno con varios sustratos o enlaces intramoleculares, cuando el grado de acetilación y de ionización es cero, la posibilidad de un enlace de hidrógeno es mínima (Domard, 2001).

Al analizar la estructura del quitosano, sus grupos $-\text{CH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$, son altamente hidrofóbicos y su conformación en solución es relativamente estresada, la tensión se incrementa con el grado de acetilación, y como consecuencia la desprotonación del grupo amino, lo cual contribuye a interacciones Van der Waals (Vachoud y col. 1997).

2.4.2.2. Nivel de reactividad

El quitosano es un polímero de alto peso molecular, es una poliamina lineal en la cual los grupos aminos están disponibles para llevar a cabo reacciones químicas y formación de sales con ácidos. En el quitosano el grupo hidroxilo primario (C-6) y el secundario (C-3) son altamente reactivos y utilizados para la formación de derivados.

Estudios en productos comerciales de quitosano acerca de las propiedades funcionales han demostrado que la reactividad promedio del quitosano es de 63% más alta que la reactividad de la quitina (54%). La capacidad de unión con el agua se presentó en un intervalo desde 458% hasta 805% y con grasa hasta 535% en los diferentes productos comerciales (Cho, 1998).

2.4.2.3. Propiedades de solubilidad y viscosidad

Las soluciones de quitosano corresponden al más importante estado físico de este biopolímero, desde el punto de vista del gran número de aplicaciones a partir de esta forma física. El quitosano puede considerarse como un polielectrolito catiónico en forma de solución diluida. En medios ácidos se comporta como un polielectrolito debido a la protonación de los grupos (NH_2). El grado de protonación como una función de la concentración del ácido además del grado crítico de protonación son los causantes de la determinación de solubilidad del quitosano (Rinaudo, 1999).

El comportamiento de soluciones diluidas del quitosano ha sido estudiado en ácido fórmico, acético, láctico y clorhídrico bajo diferentes valores de pH. Las viscosidades reducidas de las soluciones de quitosano dependen de las propiedades del ácido y el valor de pH de los disolventes. Para una concentración dada de quitosano, la viscosidad relativa se reduce si incrementa la concentración del ácido o al reducir el pH del disolvente, indicando un efecto protector de ácido excesivo similar a cuando se adiciona en soluciones salinas (Wei, 1994).

2.4.2.4. Características biológicas

El quitosano posee dos interesantes propiedades biológicas, es un material biodegradable y bioabsorbente, además su estructura constituye una fuente de carbono y nitrógeno para varios tipos de bacterias. La estructura de las enzimas responsables de dichos mecanismos se encuentra claramente identificada aunque no su mecanismo, tal es el caso de la quitina desacetilasas y enzimas hidrolizables de quitosano, como quitinasas, quitobiasas, quitosanasas, glucosamidadas y N-acetil-glucosamidadas (Guenet, 1992).

En los mamíferos estas enzimas están presentes solamente cuando el quitosano es implantado y su desaparición depende del grado de acetilación (Lee y col. 1995). La degradación del quitosano depende de varios fenómenos como son el grado de desacetilación, el peso molecular, el grado de cristalinidad, el contenido de agua, la forma y estado de la superficie del material (Fradet y col. 1986).

El quitosano no presenta ningún comportamiento antigénico, pero posee un carácter antitrombogénico y hemostático. También presenta propiedades cicatrizantes importantes, igualmente propiedades inhibitorias sobre el crecimiento de numerosos parásitos e infecciones. Además presenta propiedades inmunológicas, antitumorales, antibacterianas y antifúngicas. El quitosano es un material biológicamente amigable, se ha demostrado que el quitosano no es tóxico al sistema humano, utilizando fibras de quitosano aplicados sobre la piel permitió detener el crecimiento de hongos y otros microorganismos (Pennisi, 1993).

2.4.3. Reacciones del quitosano

En este apartado se especifican de manera resumida algunas de las reacciones del Quitosano.

2.4.3.1. Formación de policomplejos

Los complejos polielectrolitos son formados por la atracción electrostática de dos polielectrolitos con cargas opuestas como fuerza conductora del proceso. Por su naturaleza catiónica, el quitosano ha sido utilizado para la complejación de proteínas con carácter ácido en una variedad de fluidos biológicos, los cuales pueden ser manipulados con relativa facilidad.

Igualmente se ha logrado preparar una serie de policomplejos que presentan características de hidrogeles, motivo por el cual ha sido posible estudiarlos en la liberación controlada de drogas, incluyendo tratamientos anticancerosos (Mi y col. 1999).

2.4.3.2. Reacciones de entrecruzamiento

Los hidrogeles químicos son redes tridimensionales formadas por la unión covalente de todas las cadenas de polímeros existentes en un sistema determinado, hasta formar, teóricamente, una sola macromolécula. El quitosano es uno de los biomateriales más extensamente estudiados en este sentido. Existen varios agentes entrecruzantes que han sido estudiados para tal fin, como por ejemplo: la epíclorhidrina y el etilenglicol glicidil éter. La reacción de entrecruzamiento más frecuentemente utilizada para este fin es la reacción de dialdehidos para formar uniones químicas tipo base Schiff.

2.4.3.3. Cuaternización (alquilación exhaustiva del grupo amino)

Existen diversos métodos de cuaternización de grupos aminos primarios y secundarios, algunos de los cuales ya se han aplicado con éxito al quitosano, obteniéndose diferentes derivados alquilados. Una aplicación sumamente interesante de los derivados cuaternizados del quitosano es la que pudiera derivarse de las prometedoras propiedades de transporte de compuestos hidrofílicos, a través de monocapas de células intestinales de CaCO_2 , que ha exhibido el trimetil-quitosano (Thanou y col. 2000). Otra aplicación, de los derivados cuaternizados del quitosano han sido utilizados también como agente floculante en el tratamiento de aguas de desecho que contienen glutamato de sodio, mostrando alta eficiencia en la remoción de turbidez en un intervalo amplio de pH.

2.4.3.4. Preparación y modificación de electrodos

El uso de electrodos para la determinación selectiva de iones metálicos es ampliamente conocido. Un ejemplo de la aplicación de este tipo de electrodos basados en membranas preparadas con quitosano se ha estudiado en mezclas con distintos polímeros, habiéndose obtenido algunas membranas que resultaron selectivas al Cr (III). En este sentido, se han obtenido resultados aceptables con acetato de celulosa (Giovannini, 1994). Finalmente es importante mencionar que en la actualidad se han iniciado algunos estudios para la modificación

de pasta de carbono con quitosano, con el fin de aprovechar sus propiedades de agente quelante y su posible selectividad en la determinación de metales. Los ensayos iniciales con mezclas han demostrado que es necesario fijar químicamente el quitosano a las partículas de carbón, debido a que su elevada hidrofília (en medio ácido) hace difícil retenerlo dentro de la pasta en estas condiciones.

2.4.4. Aplicaciones del Quitosano

Dado el gran número de trabajos que existen sobre este versátil material, es conveniente realizar una clasificación por área sobre las aplicaciones que se le han dado. En el área de *Química Analítica*: se ha aplicado como intercambiadores de iones, aplicaciones cromatográficas, adsorción de iones de metales pesados, adsorción de ácidos y fabricación de electrodos específicos para metales. En la *Agricultura*: Para el tratamiento de las semillas, actúa como nematocida e insecticida, además actúa como estimulador del sistema inmune en las plantas e incrementa la resistencia al ataque por hongos; se ha empleado el quitosano directamente en el suelo, semillas y como tratamiento foliar para el control de patógenos (Hadwinger, 1994). En la *Ganadería*: como recubrimiento de semillas para su conservación durante el almacenamiento, aditivo para alimento de animales. En la *Industria*: como la de papel, textil y alimentaria (soporte para inmovilización de enzimas en la producción de maltosa, espesante en alimentos, agente de oxidación controlada, agente preservante). En el área de *alimentos*: el quitosano es utilizado en diferentes presentaciones como puede ser películas delgadas, geles, polvos y membranas. Como aditivo, el quitosano se utiliza como agente clarificante en jugos y bebidas, como controlador de textura, agente emulsificante y como estabilizador de color (Simpson, 1994). *Cosmetología*: es utilizado en forma de gel, membranas, solución y microesferas, además presenta grandes ventajas como la formación de matrices apropiadas para la integración de otros materiales, por ejemplo, las películas de queratina son muy importantes para el cuidado del cabello; además el quitosano es un material que retiene la humedad y no es alergénico (Skaugrud, 1991). El quitosano se encuentra presente también en espumas de afeitar, cremas para la piel y el cuerpo. *Dietéticos*: adelgazantes (existe una amplia variedad de productos comerciales que ofrecen el polímero como atrapador de grasas en el estómago). *Tratamiento de aguas*: agente floculante, agente coagulante, tratamiento de flotación para la remoción del aceite de pescado en agua (Konovalova y col. 2001), agentes filtrantes para piscinas, remoción de metales y remoción de surfactantes.

2.4.4.1. Inmovilización de enzimas

En los últimos años, la biotecnología ha experimentado grandes avances y, paralelamente sus aplicaciones industriales en la obtención de productos químicos, en la industria alimentaria y farmacéutica. Los procesos catalizados por enzimas en la industria son cada día más numerosos, ya que presentan una serie de ventajas frente a los catalizadores convencionales no biológicos como son: gran actividad catalítica; muestran gran especificidad de sustrato y son muy activos a temperatura ambiente y presión atmosférica (Wingard, 1972). Las enzimas exhiben numerosas características que presentan ventajas con su uso a los catalizadores químicos convencionales. Entre las principales se encuentran el alto nivel de eficiencia de catálisis y el alto grado de especificidad, que les permite discriminar no sólo entre reacciones sino también entre sustratos, partes similares de moléculas y entre isómeros ópticos. Estas especificidades garantizan que la reacción catalizada no sea perturbada por reacciones laterales, lo cual resulta en la producción final de un solo producto deseado, eliminando la obtención de productos no deseados. Esto permite una elevada producción con una reducción de costo.

La inmovilización de enzimas se logra fijándolas dentro de un soporte sólido, como resultado se obtiene un sistema de inmovilización de enzima heterogéneo, imitando de forma natural lo que ocurre en las células vivas, donde en la mayoría de los casos las enzimas están unidas a las membranas celulares. En este sistema se estabiliza la estructura de las enzimas, y por lo tanto sus actividades. Comparado las enzimas libres, las enzimas inmovilizadas en solución son más robustas y más resistentes a los cambios del medioambiente. La heterogeneidad de los sistemas de enzimas inmovilizadas, permite una recuperación más fácil tanto de la enzima como del producto, multiplica el reuso de las enzimas, genera el proceso enzimático continuo, una terminación rápida de reacciones y variedad en el diseño del bioreactor.

Las propiedades de las enzimas inmovilizadas son regidas por las propiedades de la enzima y el soporte. La interacción entre los dos ofrece a una enzima inmovilizada con propiedades físico-químicas específicas y propiedades cinéticas que pueden ser decisivas para su aplicación práctica, así al escoger un soporte de manera minuciosa significativamente se puede reforzar la actuación operacional del sistema inmovilizado. Aunque se reconoce que no hay un

soporte universal para las enzimas y sus aplicaciones, numerosas características son deseables para cualquier material que se considere como soporte de inmovilización de enzimas.

Muchos soportes se han estudiado para inmovilizar enzimas, tanto orgánico como inorgánico, natural o sintético; entre ellos el quitosano es el de mayor interés, dado que ofrece las siguientes características:

- Alta afinidad a las proteínas.
- Disponibilidad de grupos funcionales reactivos para reacciones directas con las enzimas y para las modificaciones químicas.
- Hidrofobicidad.
- Estabilidad mecánica, rigidez y regenerabilidad.
- Facilidad de preparación en configuraciones geométricas diferentes que proporcionen permeabilidad y un área superficial adecuada para una biotransformación conveniente.
- Para el caso de alimentos, aplicaciones biomédicas, agrícolas, cosmetología, ganadería, etc., es biocompatible y no tóxico.
- Los soportes son biodegradables, para responder al compromiso respecto a la preservación y medio ambiente.
- Son económicos.

Tras una inmovilización, la actividad de la enzima puede disminuir e incluso perderse por diversas razones. Si pierde totalmente la actividad enzimática puede ser debido a que:

a).- La unión al soporte se produce de tal forma que el paso del sustrato al centro activo está impedido; los grupos reactivos del soporte reaccionan con algún aminoácido que forme parte del centro activo o que sea esencial para la actividad catalítica de la enzima.

b).- La inmovilización puede originar un cambio conformacional que da lugar a una forma inactiva; las condiciones experimentales del proceso causan la desnaturalización o desactivación de la enzima. Si la pérdida de actividad no es total después de la inmovilización, los cambios (disminución o aumento de la actividad enzimática se deberán principalmente a efectos difusionales, electrostáticos, estéricos y/o microentorno (Goldstein, 1976). La inmovilización de enzimas presenta muchas aplicaciones como:

a).- Biosensores: Se están convirtiendo en una herramienta imprescindible en medicina, en el control de calidad de los alimentos y en el control medioambiental. Generalmente el biosensor contiene una molécula biológica inmovilizada (enzimas, células, anticuerpos) próxima a un traductor que, en contacto con el analito, transformará la señal química producida en una señal eléctrica o de otro tipo (óptica, calorimétrica, acústica).

b).- Aplicaciones médicas: existen muchas enfermedades causadas por una alteración o carencia de una determinada enzima. Existen enzimas con actividad antitumoral, cicatrizante y con otras acciones terapéuticas. El tratamiento con estas enzimas inmovilizadas permitiría una acción más prolongada, ya que serían más resistentes a la acción de las proteasas. Por ejemplo, la L-asparaginasa se utiliza en el tratamiento de leucemias y cánceres diseminados que requieren asparagina para desarrollarse (Callegaro y col. 1983). La tripsina o la colagenasa se utilizan para eliminar los tejidos muertos de heridas, quemaduras, úlceras, etc., para acelerar el crecimiento de nuevos tejidos e injertos de piel, y también para inhibir el crecimiento de algunos microorganismos contaminantes. Este tipo de enzimas se pueden inmovilizar en celulosas o fibras que formarán parte del tejido de apósitos y vendas.

c).- Industria farmacéutica: el empleo de enzimas inmovilizadas es una alternativa seria a la síntesis química en pasos clave, donde no conviene trabajar a temperaturas elevadas o se requiere una elevada especificidad de sustrato. Las enzimas son unos reactivos quirales estrictos, es decir, biocatalizadores con una estructura tridimensional asimétrica definida que permiten la obtención de productos de gran pureza óptica. Se trata de una ventaja fundamental cuando las reglamentaciones exigen la síntesis de compuestos óptimamente puros, ya sean fármacos, hormonas o antibióticos.

d).- Industria química: un ejemplo es la obtención industrial de acrilamida, compuesto ampliamente utilizado en la preparación de diferentes polímeros, aditivos y en el tratamiento del petróleo. La obtención de productos de alto valor añadido es también un campo importante para la síntesis catalizada por enzimas inmovilizadas, tal es el caso de la síntesis de péptidos, fragancias e insecticidas.

e).- Tratamiento de aguas residuales: recientemente se ha desarrollado un método para la reducción de nitratos a nitritos en aguas residuales que emplea enzimas inmovilizadas (Mellor y col. 1992). El benceno es otro compuesto muy tóxico que puede ser degradado mediante células de pseudomonas putida atrapadas en geles de poliacrilamida (Chibata, 1980).

2.4.4.2. Aplicaciones biomédicas

El Quitosano presenta diversas aplicaciones como: membranas, tabletas y películas, las cuales se mencionan a continuación.

a).- Membranas

Los materiales biodegradables porosos tienen una gran demanda en aplicaciones tales como sistemas liberadores de fármacos (Lee y col. 1997), soporte para la inmovilización de enzimas y adsorción de metales (Hiroshi y col. 1998). En particular, la utilización de este biopolímero para la regeneración de tejidos dañados es muy importante debido a la insuficiencia de órganos y tejidos que son donados comparados con la gran demanda existente. El potencial de trasplante de células ha sido investigado por varios grupos para la regeneración de tejidos como nervios, cartílago y hueso (Zhan, y col. 1999).

Se han estudiado membranas de quitosano con poli vinil alcohol (PVA), con heparina para la inmovilización de moléculas como la prostanglandina, las membranas de quitosano y albúmina presentaron las mejores propiedades de permeabilidad para pequeñas moléculas con una mínima reducción en adhesión a las membranas. Se han desarrollado membranas de quitosano modificadas con 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA), las cuales son utilizadas en la liberación controlada de glucosa (Singh y col. 1999). También han sido reportadas recientemente, membranas que cambian en grado de permeabilidad en base al pH o exposición de luz. El quitosano tiene un potencial que puede ser usado en riñón artificial como membrana (Muzzarelli, 1987).

b).- Tabletillas y Películas

El quitosano ha sido estudiado por la industria farmacéutica en Japón y Estados Unidos debido a su potencial como sistemas liberadores de fármacos. El potencial catiónico y los grupos

reactivos que posee el quitosano le proporcionan propiedades únicas para ser utilizadas en tecnología de liberación controlada, aunado a lo anterior la biocompatibilidad y biodegradabilidad han sido ampliamente estudiadas (Karslen, 1991).

Los productos de degradación del quitosano no producen disturbios en el cuerpo, así varios fármacos pueden ser incorporados dentro de matrices en diferentes formas como por ejemplo, la aspirina se ha incorporado en forma de gránulos, el diclofenaco sodico en tabletas, azul brillante en películas, cloruro de propanol en parches.

Se han desarrollado tabletas mucoadhesivas conteniendo quitosano, estas tabletas se han usado en forma oral o sublingual para la liberación de fármacos en sistemas mucoadhesivos oculares el cual ha sido estudiado por (Greaves, 1993).

El quitosano con características estructurales similares a los glicosaminoglicanos se ha considerado para el desarrollo de películas para cubrir las heridas en piel a partir de complejos polielectrolitos de quitosano, las heridas sanan de forma más acelerada por los oligómeros de la degradación del quitosano a causa de enzimas en los tejidos, así este material fue efectivo en la regeneración de piel en áreas afectadas.

El químico farmacéutico Galo Cárdenas en el año del 2004, trabajó con películas de quitosano para la regeneración de la piel humana, obteniendo resultados en tiempo récord. Creó películas semejantes al celofán, que se aplican sobre la piel herida, quemada o con infecciones. Esta piel artificial aleja las infecciones e impide la pérdida de líquidos corporales. Bajo la película la recuperación de los tejidos es notoria a los cinco días; a los diez las heridas están casi curadas y, lo más sorprendente, sin marcas. No existen suturas ni deformaciones, sólo una tenue mancha que se difumina. El dolor es reemplazado por una sensación analgésica. Las curaciones no son necesarias. Al transcurrir el tiempo las películas se desprenden por si solas. El quitosano tiene un grupo amino que permite su disolución en un solvente ácido y la alta densidad de los grupos aminos sobre el polímero le confieren características de hemostasis (proceso que impide la salida de la sangre en una lesión). Esta propiedad puede causar coagulación en la sangre cuando se usa como soporte en los trasplantes.

Dada la importancia que tienen los materiales híbridos, en el presente trabajo se reporta la obtención y caracterización de materiales híbridos a base de QT-SiO₂, el cual para un trabajo posterior tendría una aplicación como soporte para la inmovilización de enzimas, esto debido a que en los últimos años el quitosano ha despertado un gran interés en la población científica por el gran número de aplicaciones que éste presenta.

2.5. Técnicas analíticas de caracterización

Las técnicas analíticas de caracterización empleadas para el desarrollo de este trabajo son: Difracción de rayos X (DRX), Medición de área superficial (BET), Microscopia Electrónica de Barrido (SEM), Espectroscopia Infrarroja (FT-IR), y Análisis termogravimétrico (TGA).

2.5.1. Difracción de rayos X (DRX)

Los métodos de difracción y dispersión de rayos X se aplican actualmente para el estudio y caracterización a nivel atómico de la estructura interna de todo tipo de materiales; esto es, para determinar la forma en que los átomos de los diferentes elementos químicos constituyentes se encuentran localizados los unos con respecto de otros. Sin embargo la fiabilidad, la exactitud y la precisión con que se pueden determinar las estructuras internas de los materiales frecuentemente dependen de las condiciones de preparación de la muestra para su análisis en el difractor de rayos X.

La difracción de rayos X permite determinar la naturaleza amorfa o cristalina de los materiales. Se genera cuando las ondas incidentes en los planos paralelos de un cristal se reflejan e interfieren de una manera constructiva, lo que es posible cuando la trayectoria recorrida por el haz es un múltiplo entero “n” de la longitud de onda (λ) (Reyes y col. 2000).

2.5.2. Medición del área superficial (BET)

El método a seguir para la medición de áreas superficiales esta basado en la técnica desarrollada por Brunauer, Emmet y Teller (BET) en 1938. El área superficial de un material es una propiedad fundamental para el control de la velocidad de interacción entre sólidos, líquidos y gases. Este método se basa en la adsorción física de un gas en la superficie sólida. Generalmente se determina la cantidad de nitrógeno gaseoso adsorbido en equilibrio al punto de ebullición

normal (-195.8°C) en un intervalo de presiones inferiores a 1 atm. Bajo estas condiciones, se pueden adsorber consecutivamente varias capas de moléculas sobre la superficie. Para poder determinar el área es necesario identificar la cantidad adsorbida que corresponde a una capa monomolecular.

2.5.3. Microscopia electrónica de barrido (SEM)

La Microscopia Electrónica de Barrido ofrece imágenes de gran resolución y profundidad con una calidad tridimensional. A nivel microscópico, todas las superficies de cualquier sólido altamente pulidas presentan algunas irregularidades con hendiduras y protuberancia. Ahora es posible tener una imagen de su superficie y, observar la diferencia estructural existente entre muestras sólidas. Esto es posible mediante la utilización del microscopio electrónico de barrido.

Un microscopio electrónico de barrido utiliza un delgado haz de electrones que barre la superficie de una muestra y forma la correspondiente imagen con los electrones retrodispersados o electrones secundarios (Hobart, 1967). Los electrones secundarios son sensibles a cambios en la morfología superficial. El equipo de SEM opera bajo vacío y usa filamentos de tungsteno. Los principales requerimientos de la muestra son: ser compatible con operación bajo vacío y conductos eléctricos. Si la muestra no soporta el vacío se puede hacer un secado de la misma por el método de CO₂ o se puede observar a baja temperatura. Las muestras no conductoras se recubren con una capa de carbón u oro.

2.5.4. Espectroscopia infrarroja (FT-IR)

Esta técnica permite obtener información del tipo de enlaces químicos involucrados en las estructuras, también determina los grupos funcionales presentes en la molécula. Es útil para análisis cualitativo, dado que por su gran selectividad se puede cuantificar una sustancia en una mezcla compleja sin la realización de trabajo previo de preparación. El espectro infrarrojo de un compuesto proporciona gran información sobre sus propiedades internas como: composición química, impurezas, interacción entre sustituyentes, análisis de grupos funcionales, etc., por lo que es de gran importancia en análisis cualitativo (Martínez, 2002).

El proceso de análisis implica en primer lugar introducir el material a analizar en el espectrofotómetro infrarrojo. Esto se logra generalmente extendiendo una película sobre un disco de cloruro de sodio (NaCl) o pulverizando el material con bromuro de potasio (KBr) y, haciendo posteriormente una pastilla compacta. Se emplean estas sales porque son invisibles a la luz infrarroja. Esta forma de preparación de las muestras es la más común cuando se trata de polímeros. Enseguida se coloca la muestra dentro del espectrofotómetro y se inicia el barrido con la luz. Posteriormente se habrá tenido un espectro infrarrojo.

2.5.5. Análisis termogravimétrico (TGA)

Es una técnica que mide la variación de masa en un compuesto en función de la temperatura. Las variaciones de temperatura no siempre implican un cambio en la masa de la muestra, existe sin embargo cambios térmicos que si se acompañan de un cambio de masa, como la descomposición, la sublimación, la reducción, la deserción, la adsorción y la evaporación. Estos cambios pueden ser medidos con el analizador termogravimétrico.

Debido a que la masa es un atributo fundamental de un material, cualquier cambio de masa esta probablemente asociado con un cambio químico, que puede reflejar un cambio en la composición. La muestra es colocada en un horno mientras está suspendida de un brazo de una palanca de precisión. El cambio en el peso de la muestra es registrado mientras la muestra es mantenida a una temperatura de interés o se somete a un calentamiento programado. La curva TGA puede ser graficada en:

- a).- La pérdida de peso de la muestra.
- b).- En forma diferencial, (cambio de la muestra con respecto al tiempo) como una función de la temperatura.

El análisis de TGA proporciona una medida cuantitativa de cualquier cambio de masa asociado con una transición o degradación térmica. El TGA puede directamente registrar el cambio de masa debido a la deshidratación, descomposición u oxidación de un polímero con un tiempo y una temperatura. Las curvas termogravimétricas son características para un polímero dado o un compuesto porque la única reacción fisicoquímica que ocurre sobre los rangos

específicos de temperatura está en función de la estructura molecular. Los cambios en la masa son el resultado de una ruptura y/o formación de varios enlaces químicos y físicos a altas temperaturas que conllevan a la evaporación de productos volátiles o a la formación de productos de reacción más pesados.

CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA

Este capítulo está dividido en tres secciones: 1). Desarrollo experimental para la obtención del monolito de SiO₂, 2). Adsorción de la solución QT-HAC en el monolito de SiO₂ a diferentes concentraciones de QT en solución HAC, temperatura y tiempo de inmersión. 3). Técnicas de medición y caracterización.

3.1. DESARROLLO EXPERIMENTAL

En este apartado se detallan las características de los reactivos y solventes utilizados en la obtención de los materiales híbridos, así como la etapa de síntesis.

3.1.1. Reactivos y solventes

Se presentan algunas características físicas y químicas de los reactivos y solventes utilizados para llevar a cabo la obtención del material híbrido QT-SiO₂. Los reactivos y solventes utilizados se detallan a continuación.

a).- Tetraetilortosilicato (TEOS) (Aldrich)

Se utiliza tal y como se recibe, sin tratamiento previo. Combustible líquido. Irritante para los ojos y para el sistema respiratorio. Causa irritación en la piel. Este reactivo es protegido de la humedad ya que es altamente higroscópico.

b).- Ácido Nítrico (J.T. Bayer)

Se utiliza tal y como se recibe, sin tratamiento previo. Líquido incoloro y corrosivo, de color amarillento que se obtiene por oxidación del amoníaco. Afecta el sistema respiratorio, dientes, membrana mucosa, piel y ojos.

c).- Alcohol etílico absoluto (Reproquifin)

Se utiliza tal y como se recibe. Es un líquido incoloro, fácilmente inflamable, arde con llama azulada pálida. Su solubilidad en el agua es en todas las proporciones, siendo además soluble en diversas sustancias orgánicas e inorgánicas cuando se mezcla en estado anhidro. Obtenido comercialmente como sustancia de alta pureza.

d).- Agua desionizada

La desionización del agua tuvo como función principal eliminar las sales ya que estas dificultan la polimerización.

e).- Ácido Acético glacial

Líquido incoloro, de olor picante, que se produce por oxidación del alcohol etílico, da su sabor característico al vinagre y se usa en la síntesis de productos químicos. Es tóxico y altamente corrosivo. Se utiliza tal y como se recibe, sin tratamiento previo. Se almacena en lugares secos y espacios ventilados ya que es un reactivo higroscópico.

f).- Quitosano (Aldrich)

Se utiliza tal y como se recibe sin tratamiento previo, con un grado de desacetilización de 87% y peso molecular promedio de 300,000 g/mol.

En la Tabla 3.1 se muestran las propiedades físicas de los reactivos y solventes utilizados para la obtención del polímero híbrido; donde PM = peso molecular, b.p. = temperatura de ebullición, m.p. = temperatura de fusión, d=densidad.

Tabla 3.1. Propiedades físicas de los reactivos

Reactivo	Fórmula	PM (gr/mol)	b.p, °C	m.p °C	d g/cm ³	Pureza (%)
TEOS	Si(OCH ₂ CH ₃) ₄	208.33	168	-85.5	0.9330	98
Ácido nítrico	HNO ₃	63.01	121	-42	3.3820	65.8
Etanol	CH ₃ CH ₂ OH	46.06	78	-78.25	0.7890	99.9
Agua	H ₂ O	18	100	0	1.0	
Ácido acético	CH ₃ COOH	60.053	117.9	16.6	1.049	
Quitosano	QT	300000				87

3.1.2. Obtención del material de SiO₂

En esta etapa se describe el procedimiento para obtener el SiO₂ en forma de monolitos empleando el proceso Sol-Gel, el cual consta de los siguientes pasos:

- 1) *Hidrólisis de TEOS.*
- 2) *Condensación y gelación.*
- 3) *Envejecimiento.*
- 4) *Secado.*
- 5) *Tratamiento térmico.*

La Figura 3.1 muestra el procedimiento empleado para la obtención del monolito de SiO_2 utilizando el proceso Sol-Gel.

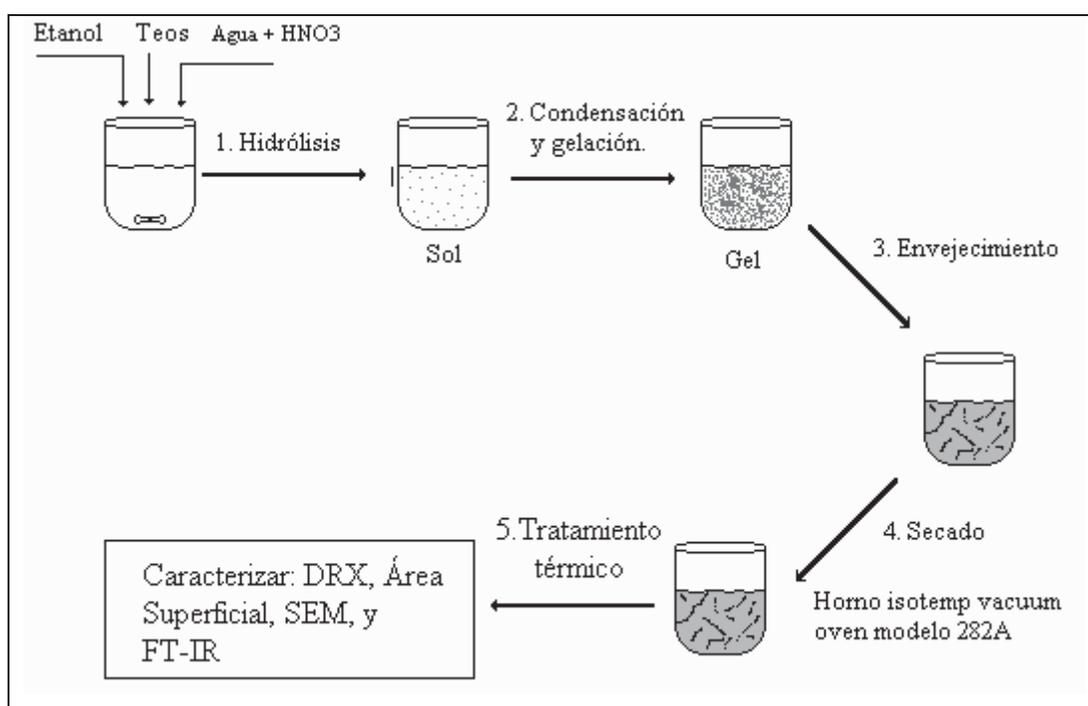


Figura 3.1. Obtención del monolito de SiO_2 mediante el proceso Sol-Gel.

3.1.2.1. Hidrólisis del TEOS

La primera etapa de síntesis para la obtención del monolito de SiO_2 consiste en la hidrólisis de TEOS tal como se muestra en la Figura 3.2 y de acuerdo al siguiente procedimiento:

- a) En un vaso de precipitados se agregaron 15 mL de etanol el cual se colocó en un baño maría con agitación magnética a 1200 rpm hasta alcanzar una temperatura de 60°C .
- b) Alcanzada la temperatura, se adicionaron 15 mL de tetraetilortosilicato (TEOS) manteniéndose la agitación continua y la temperatura de 60°C durante 15 minutos.

- c) Posteriormente se adicionó gota a gota una solución compuesta por 20 mL de agua y 0.056 mL de ácido nítrico. Después de adicionada la solución, la mezcla se mantuvo con agitación magnética a 1200 rpm y 60°C durante 60 minutos. La relación molar TEOS/AGUA/ETANOL fue de 1/16/4 (Klein 1985).

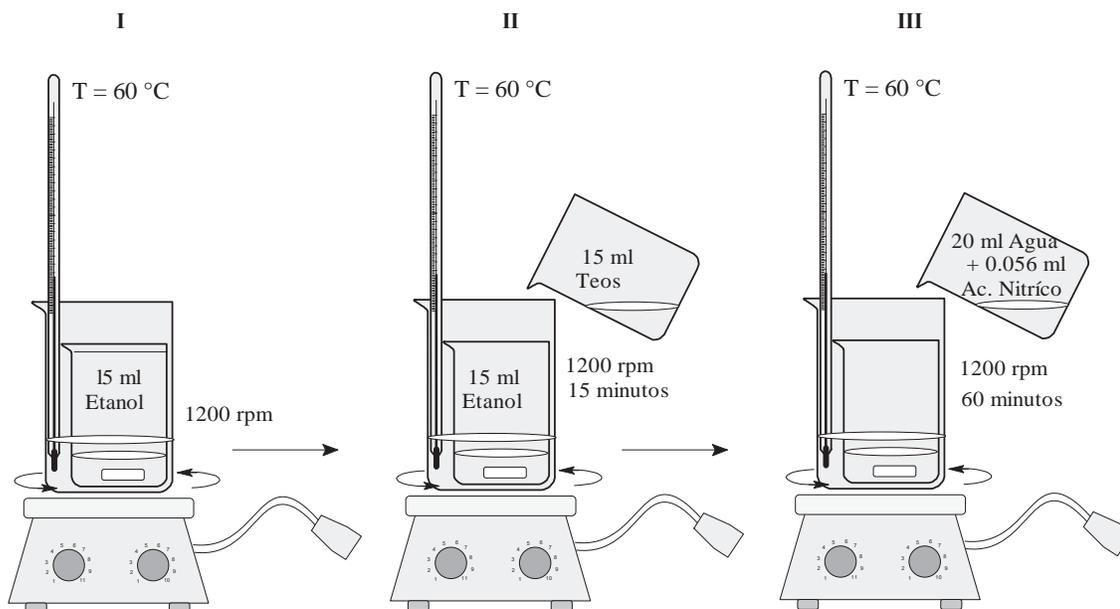


Figura 3.2. Sistema de reacción implementado en la primera etapa de síntesis.

La reacción de hidrólisis bajo condiciones ácidas, ocurre cuando el TEOS y el agua se mezclan en un solvente mutuo generalmente alcohol etílico, para dar como producto un hidroximetil tal como se muestra en la ecuación 3.1.



- d) Trascurrido el tiempo de 60 minutos, se dejó enfriar hasta temperatura ambiente (aproximadamente 18°C) sin control de velocidad de enfriamiento, el tiempo que tardó en llegar a esa temperatura fue de 40 minutos. Posteriormente se tomaron alícuotas de 2.5 mL de solución y se colocaron en recipientes de plástico de 2 cm de diámetro, para permitir la gelación.

En la Figura 3.3 se observan las muestras a condiciones ambiente para la eliminación del solvente y otros líquidos que son producidos en la reacción de hidrólisis.

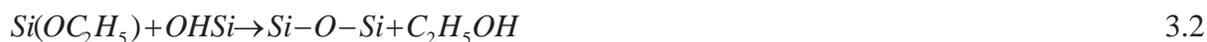


Figura 3.3. Muestras de SiO₂ en proceso de gelación.

3.1.2.2. Condensación y gelación

Las muestras permanecieron en condiciones ambiente de presión y temperatura hasta llegar al punto de gelado, es decir cuando han alcanzado una apariencia gelatinosa. En este punto se termina la reacción de condensación. El tiempo transcurrido hasta alcanzar la gelación fue de aproximadamente 12 días.

La reacción de condensación permite la formación de una red polimérica tridimensional de un metal u óxido de silicón, obteniendo como subproductos moléculas de agua y alcohol, como se muestra en las Ecuaciones 3.2. y 3.3



Las reacciones de hidrólisis y condensación conducen a la formación de agregados (clusters), que se enlazan hasta formar un único agregado gigante denominado gel. En el momento de formación del gel existen muchos clusters en el sol que se unen entre sí para formar una red sólida, responsable de la elasticidad, y ocurre un cambio abrupto de la viscosidad. Las reacciones de hidrólisis y condensación ocurren simultáneamente y así se forma una red que puede ser controlada por la compleja interacción de las reacciones de hidrólisis y condensación. (Leigh, 1990).

3.1.2.3. Envejecimiento

Esta etapa consiste en la incorporación de los posibles monómeros presentes en la fase líquida de la gran estructura del polímero, puesto que después de la gelación, el sistema continúa reaccionando, produciendo cambios químicos y estructurales. Los cambios químicos que se pueden producir son:

- 1) *Polimerización*: proceso que aumenta la interconexión del esqueleto sólido, en consecuencia aumenta la densidad y la resistencia mecánica del sólido.
- 2) *Sinéresis*: es la contracción del esqueleto sólido del gel, acompañada de la expulsión de la fase líquida contenida en los poros.
- 3) *Crecimiento*: este proceso se debe a la disolución y precipitación producida por la diferencia de solubilidad entre las partículas.
- 4) *Cambios de fases*: durante todo el proceso de envejecimiento pueden ocurrir otros cambios de fases además de la sinéresis, por ejemplo la fase líquida se puede dividir en dos, también puede ocurrir cristalización de sales utilizadas en los sistemas multicomponentes.

Durante esta etapa de envejecimiento el gel formado sufre encogimiento, de tal manera que se permite eliminar una pequeña parte del solvente, y se obtienen materiales definidos a los que llamaremos monolitos que posteriormente pasan a la etapa de secado con control de temperatura para eliminar el solvente restante.

3.1.2.4. Secado

El objetivo del secado es eliminar en la mayor cantidad posible la fase líquida que se encuentre presente entre la estructura de la fase sólida. Con la finalidad de evitar la fractura ó rompimiento de los monolitos formados durante el envejecimiento, estos fueron secados de temperatura ambiente (18°C) hasta 100°C por 14 horas con velocidad de calentamiento lento. El secado se realizó en un horno isotemp vacuum oven modelo 282. El perfil de temperatura utilizado por (Gómez y Col. 2005) para el secado de monolitos, fue adecuado tomando en cuenta las condiciones ambientales de nuestra región. La Figura 3.4 muestra el perfil de temperatura que se utilizó para el secado de los monolitos.

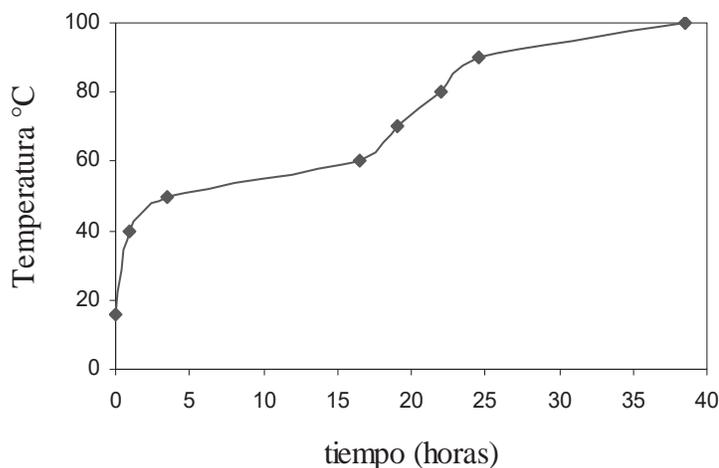


Figura 3.4. Perfil de temperatura para el secado de monolitos de SiO₂.

3.1.2.5. Tratamiento térmico

Con la finalidad de proporcionar estabilidad térmica, eliminar humedad y no afectar la presencia de algunos grupos OH en el monolito de SiO₂ los cuales posteriormente permitirán una mejor interacción con el quitosano, se dio tratamiento térmico a 500°C por 6 horas con velocidad de calentamiento de 5.5 °C/min en atmósfera de aire estático. El tratamiento se realizó en una mufla programable marca JELRUS de dos etapas.

3.1.3. Preparación de sustratos

Para realizar las pruebas de adsorción de la solución QT-HAC sobre los monolitos, se prepararon soluciones acuosas con ácido acético a concentración de 0.2 molar, en la que se disolvieron 0.25, 0.5, 0.75 y 1 gramo de quitosano.

3.1.3.1. Preparación de la solución HAC 0.2 M

Se preparó un litro de solución de HAC 0.2M, mediante el siguiente procedimiento: en un matraz aforado de 1000 mL de capacidad, se agregaron 11.4 mL de ácido acético y se aforo con agua desionizada a 1000 mL. Se agitó hasta obtener una solución completamente homogénea. La solución se vació en un frasco de donde se tomaron las cantidades requeridas para disolver la cantidad de quitosano necesaria.

3.1.3.2. Preparación de la solución QT-HAC

La preparación de la solución se llevo a cabo mediante el siguiente procedimiento:

- De la solución ácido acético 0.2 M se tomaron alícuotas de 100 ml y se adicionó QT en proporciones de 0.25, 0.5, 0.75 y 1 gramo respectivamente.
- Para disolver el QT fue necesario calentar la solución a 25 °C en baño maría con agitación magnética de 1200 rpm, hasta obtener una solución homogénea.
- El tiempo empleado para disolver completamente el QT fue de 30 minutos para 0.25 grs, 2.5 horas para 0.5 grs, 4 horas para 0.75 grs y 4.5 horas para un 1 gr de QT.
- Una vez que se disolvió el quitosano se colocaron las soluciones en frascos perfectamente etiquetados y tapados.

En las Figuras 3.5a y 3.5b se puede observar el QT en estado sólido y la disolución de QT en HAC 0.2M, la solución obtenida es viscosa, incolora y transparente.



Figura 3.5. a) Quitosano en estado sólido



b).- Solución de QT-HAC

3.1.3.3. Adsorción de la solución QT-HAC en el monolito de SiO₂

En esta etapa se describe el procedimiento empleado para la adsorción de la solución QT-HAC sobre el monolito de SiO₂. En el cuál se estudiaron los siguientes factores con sus respectivos niveles:

- Concentración de Quitosano en solución HAC: 0, 0.25, 0.5, 0.75 y 1 gramo.
- Tiempo de inmersión del monolito de SiO₂ en solución QT-HAC: 15, 30, 60, 90 y 120 minutos.
- Temperatura de 25, 50, 70 °C.

Adsorción de la solución QT-HAC a 25 °C

a).- En 5 vasos de precipitados se adicionaron 10 mL de solución preparada a diferentes concentraciones de QT en solución HAC, los cuales fueron calentados a 25 °C en baño maría.

b).- Posteriormente se adicionó un monolito (previamente pesado con un peso P_1) por cada una de las soluciones y permaneció el tiempo de inmersión indicado en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2. Temperatura, concentración de QT, tiempo de inmersión y nombre de la muestra.

mL solución QT-HAC	T°C	Concentración de QT en HAC	Tiempo de inmersión (min)					Nombre de la Muestra
			15	30	60	90	120	
10	25	0 QT	15	30	60	90	120	25/0/15
		0.25 QT	15	30	60	90	120	25/0.25/15
		0.5 QT	15	30	60	90	120	25/0.5/15
		0.75 QT	15	30	60	90	120	25/0.75/15
		1 QT	15	30	60	90	120	25/1/15

La nomenclatura de las muestras indica lo siguiente: el primer número la temperatura en grados centígrados, el segundo indica la concentración de QT en solución HAC y el tercer número indica el tiempo de inmersión en minutos.

c).- Una vez transcurrido el tiempo de inmersión de cada monolito, estos fueron pesados inmediatamente después de removerlos de la solución. Posteriormente se colocaron en una caja petry para su secado a 80 °C por 24 horas en un horno isotemp vacuum oven modelo 282. Finalmente, las muestras se pesaron (peso P_2) y se colocaron en un desecador a 37 °C para posteriormente caracterizarlas.

De las muestras obtenidas a 25 °C, se seleccionaron las que presentaron mejores resultados de adsorción de QT-HAC y tiempos de inmersión con la finalidad de evaluar el efecto de la temperatura a 50 y 70 °C. Siguiendo el mismo procedimiento empleado para las muestras adsorbidas a 25 °C. Las muestras fueron etiquetadas de acuerdo a la Tabla 3.3.

Tabla 3.3. Temperatura, concentración de QT, tiempo de inmersión y nombre de la muestra.

mL solución QT-HAC	T°C	Concentración de QT en HAC	Tiempo de inmersión (min)		Nombre de la Muestra
10	50	0 QT	90	120	50/0/90
		0.25 QT	90	120	50/0.25/90
		0.5 QT	90	120	50/0.5/90
		0.75 QT	90	90	50/0.75/90
		1 QT	90	120	50/1/90
	70	0 QT	90	120	70/0/90
		0.25 QT	90	120	70/0.25/90
		0.5 QT	90	120	70/0.5/90
		0.75 QT	90	90	70/0.75/90
		1 QT	90	120	70/1/90

3.2 Técnicas de medición

Las técnicas de medición utilizadas fueron: pH, densidad y viscosidad de las soluciones QT-HAC y cálculo del porcentaje de adsorción de la solución QT-HAC en el monolito de SiO₂.

3.2.1. pH de las soluciones QT-HAC

La medición del pH fue llevada a cabo con el propósito de medir la concentración de los iones de hidrógeno dentro de la solución, dado que el valor de estos iones es una indicación del avance de la reacción. Para la medición del pH se empleó un multiparamétrico marca Hanna Instruments modelo HI991300.

3.2.2. Densidad y Viscosidad de las soluciones QT-HAC

La medición de densidad y viscosidad se realizaron a 25, 50 y 70°C, en un equipo stabinger viscometer SVM 3000.

3.2.3. Cálculo del porcentaje de adsorción de la solución QT-HAC

El porcentaje de adsorción de la solución QT-HAC en el monolito de SiO₂, es calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ adsorción de QT - HAC} = \frac{P_2 - P_1}{P_2} (100) \quad 3.4$$

Donde: P₁= peso seco del monolito.

P₂= peso del monolito después de secado.

3.3. Técnicas analíticas de caracterización

Las técnicas de caracterización empleadas fueron: Difracción de rayos X, Medición del Área Superficial, Microscopia Electrónica de Barrido, Espectroscopia Infrarroja, y Análisis Termogravimétrico.

3.3.1. Difracción de rayos X (DRX)

Con la finalidad de conocer el arreglo estructural de los monolitos obtenidos se utilizó difracción de rayos X, el cual se obtuvo en un difractómetro marca RigakuD/max-2100 a 30 Kv de voltaje y 16 mA de corriente eléctrica. Las muestras se analizaron en la región 2 θ .

3.3.2. Medición del Área Superficial (BET)

El área superficial del material se determinó por el método de BET. El área superficial es determinada por la medición del volumen de gas nitrógeno adsorbido en equilibrio al punto normal de ebullición (-195.8°C) en un intervalo de presiones inferiores a 1 atm por la superficie del material.

3.3.3. Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

Las muestras fueron recubiertas con oro y analizadas en un microscopio electrónico XLDESEM (Phillips), provisto con un microanalizador EDS.

3.3.4. Espectroscopia Infrarroja (FT-IR)

Los espectros de infrarrojo de los diferentes materiales fueron obtenidos en un equipo Nicolet 5ZDA con una lámpara de tungsteno y un detector de PbSe, con un intervalo en la región

de infrarrojo medio de ($4000-400\text{ cm}^{-1}$), las mediciones se realizaron en placas de KBr a partir de pellets con un diámetro de 12.8 mm.

3.3.5 Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico se obtuvo en un equipo marca Mettler TGA/STDA 851. Las mediciones termogravimétricas se realizaron con 4-5 μL , bajo una atmósfera de argón con un flujo de 50 $\mu\text{L}/\text{min}$. La velocidad de barrido fue de $10^\circ\text{C}/\text{min}$.

CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente capítulo se dan a conocer los resultados de la investigación de acuerdo a la metodología descrita en el capítulo 3.

4.1 Observaciones del proceso Sol-Gel y producto de reacción

Durante el desarrollo del proceso Sol-Gel para la obtención del monolito de SiO_2 , así como en el proceso de adsorción de quitosano se presentaron algunos sucesos como se menciona a continuación.

4.1.1. Proceso sol-gel y adsorción de la solución QT-HAC

Con la finalidad de obtener el material de SiO_2 en forma de monolitos mediante el proceso Sol-Gel, se realizaron algunas pruebas preeliminares, por ejemplo, se utilizó una relación molar $\text{TEOS/AGUA}=1/10$ y temperatura de síntesis de $60\text{ }^\circ\text{C}$. Las muestras obtenidas fueron secadas a temperatura ambiente como se describió en el capítulo 3, sin embargo, las relaciones molares establecidas no fueron satisfactorias ya que las muestras durante el proceso de secado se fracturaban tal como se observa en la Figura 4.1, por lo que fue necesario seguir buscando las relaciones apropiadas de los reactantes.



Figura 4.1. Material de SiO_2

A relaciones molares de TEOS/AGUA/ETANOL de $1/16/4$ y temperatura de síntesis de 60°C se obtuvieron monolitos bien definidos tal como se muestra en la Figura 4.2 por lo que, se consideraron estas condiciones como las adecuadas para la preparación de los monolitos de SiO_2 .

Con la finalidad de obtener materiales estables y con buena resistencia mecánica se realizó el tratamiento de calcinación a los monolitos de SiO_2 . Las temperaturas de calcinación estudiadas fueron 250, 500, y 750°C a diferentes tiempos de calcinación, de las cuales se concluyó que las mejores condiciones de calcinación fueron a 500°C por 6 horas, obteniendo monolitos de SiO_2 con mayor resistencia y bien definidos como se observa en la Figura 4.3.



Figura 4.2. Monolitos de SiO_2 después del proceso de secado.



Figura 4.3. Monolitos de SiO_2 después del proceso de calcinación.

Bajo estas condiciones de síntesis y calcinación se logro obtener que los monolitos de SiO_2 presentaran mayor resistencia para el tiempo de inmersión con la solución QT-HAC, por periodos prolongados y temperaturas elevadas. En la Figura 4.4 se observa el monolito de SiO_2 inmerso en solución QT-HAC.

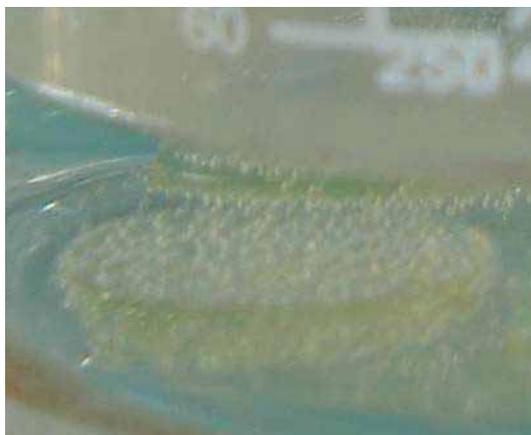


Figura 4.4. Monolito de SiO₂ inmerso en la solución QT-HAC.

4.2. Técnicas de medición

Las técnicas de medición utilizadas en el presente trabajo experimental fueron: Medición del pH, medición de densidad y viscosidad de las soluciones QT-HAC, y cálculo del porcentaje de adsorción de solución QT-HAC en el monolito de SiO₂.

4.2.1. pH de las soluciones QT-HAC

Los valores obtenidos de pH para las diferentes soluciones de QT-HAC se muestran en la siguiente Tabla 4.1.

Tabla 4.1. Valores obtenidos de pH de las soluciones QT-HAC.

Concentración de QT en HAC	pH
0 QT	2.39
0.25QT	2.85
0.5QT	3.19
0.75QT	3.36
1 QT	3.50

La Figura 4.5 muestra el comportamiento de pH que presentaron las diferentes soluciones, se puede observar que hay una relación directa en la disminución de la acidez de la solución QT-HAC con respecto al incremento de la concentración de quitosano. Este comportamiento permite valorar el proceso de disolución del biopolímero, al disociarse los protones del ácido acético con respecto a la concentración del quitosano.

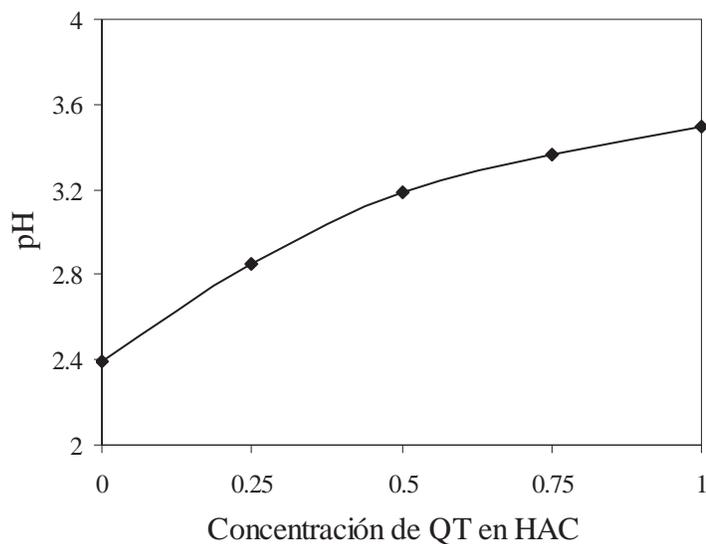


Figura 4.5. pH contra concentración de QT en solución HAC.

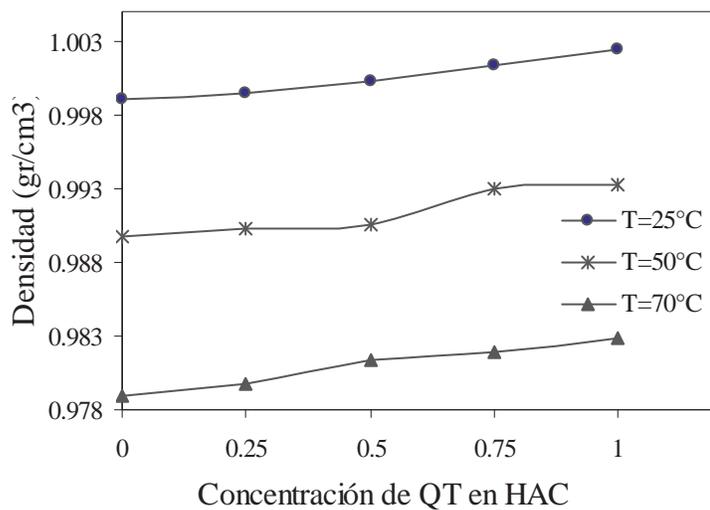
4.2.2. Densidad y Viscosidad de las soluciones QT-HAC

La Tabla 4.2 muestra los valores obtenidos de densidad y viscosidad. Se observa que para cada temperatura de estudio, el incremento de la densidad es proporcional a la concentración de QT en solución HAC, lo cual es razonable debido al incremento de masa por parte del biopolímero, como consecuencia se genera una disminución en la densidad, tal como se muestra en la Tabla 4.2 y Figura 4.6.

En la Figura 4.6 se observa que la densidad de las diferentes soluciones disminuye con el aumento de la temperatura, debido a que al incrementarse la temperatura genera un aumento en el volumen libre ocasionado por un aumento en el volumen del ovillo (del QT), lo cual propicia que la densidad disminuya.

Tabla 4.2. Valores obtenidos de densidad y viscosidad de las soluciones QT-HAC.

T (°C)	Concentración de QT en HAC	Densidad (gr/cm ³)	Viscosidad (mm ² /s)
25	0 QT	0.9990	0.7043
	0.25 QT	0.9995	6.6134
	0.5 QT	1.0003	25.891
	0.75 QT	1.0013	43.312
	1 QT	1.0024	87.441
50	0 QT	0.9898	0.60462
	0.25 QT	0.9903	4.0719
	0.5 QT	0.9905	6.6961
	0.75 QT	0.9930	11.759
	1 QT	0.9932	14.393
70	0 QT	0.9790	0.43185
	0.25 QT	0.9798	2.8307
	0.5 QT	0.9814	4.5054
	0.75 QT	0.9819	7.2262
	1 QT	0.9829	9.6082

**Figura 4.6. Densidad contra concentración de QT en solución HAC.**

En la Figura 4.7 se observa que la viscosidad presenta un comportamiento similar a la densidad conforme se incrementa la temperatura. El comportamiento de ambas propiedades se debe a que el quitosano en condiciones de pH ácido se comporta como un polielectrólito y presenta mayor carga de grupos glucosaminos. (Dutkiewicz, 1992).

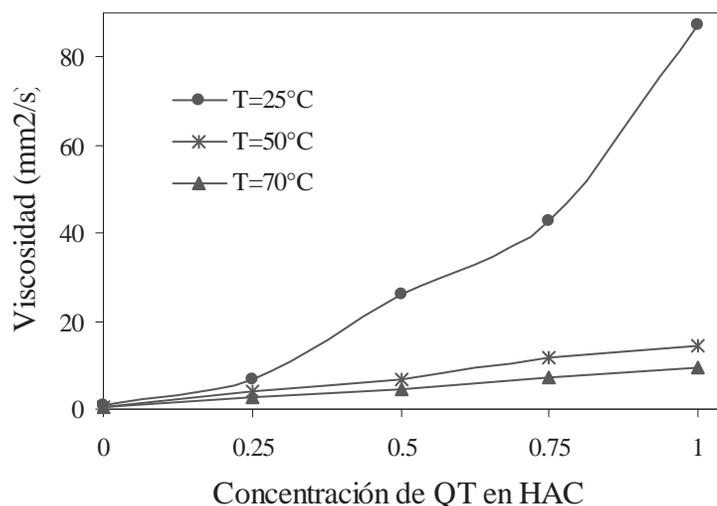


Figura 4.7. Viscosidad contra concentración de QT en solución HAC.

4.2.3. Cálculo del porcentaje de adsorción de la solución QT-HAC

Para el análisis del porcentaje de adsorción de la solución QT-HAC, se realizaron dos repeticiones. La tabla 4.3 muestra el porcentaje de adsorción de la solución QT-HAC a 25°C.

Tabla 4.3. Adsorción de la solución QT-HAC en el monolito de SiO₂ a 25°C.

Concentración de QT en HAC	% de Adsorción de la solución QT-HAC				
	Tiempo de inmersión (min)				
	15	30	60	90	120
0	0.080	4.57	5.62	6.74	12.11
0.25	0.040	1.99	5.03	4.75	4.85
0.5	0.11	1.94	4.68	4.51	4.45
0.75	0.58	0.71	0.59	0.74	1.12
1	0.58	0.66	0.73	0.94	0.78

Se puede observar que a 0.75 y 1 gramo de QT en solución HAC, las soluciones son más viscosas (43.312 y 87.441 mm²/s respectivamente), provocando una menor adsorción de la solución, esto quizá debido a la baja difusión de la solución QT-HAC en el monolito. En la Figura 4.8 se observa el comportamiento de adsorción QT-HAC a 25°C.

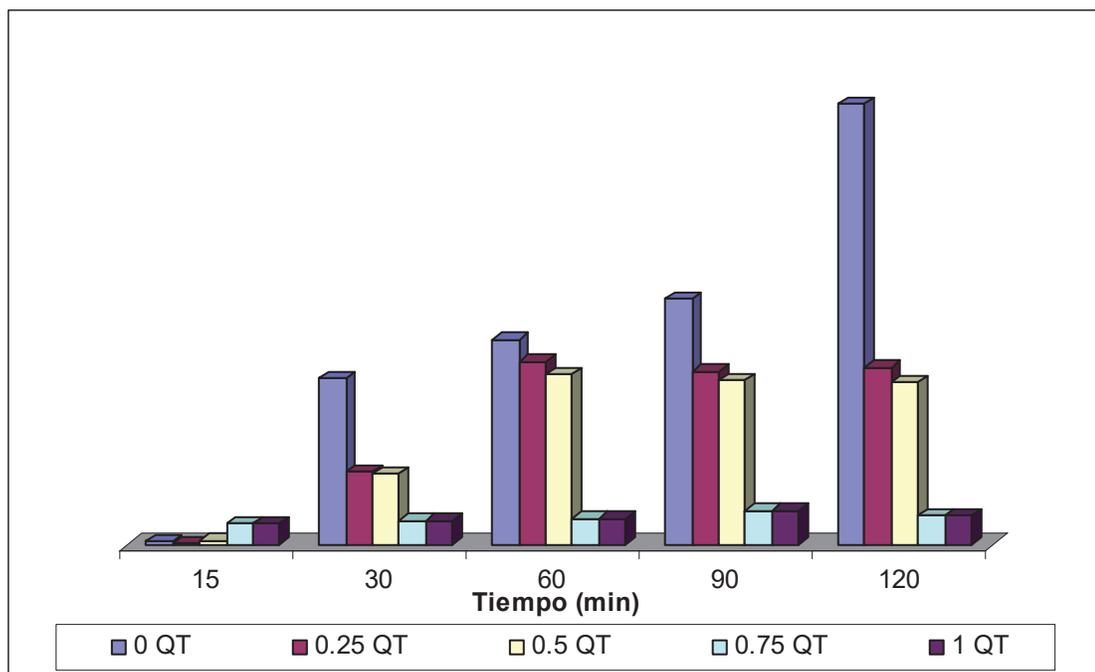


Figura 4.8 Comportamiento de adsorción de la solución QT-HAC a 25°C.

Se puede observar que las adsorciones en las muestras con concentraciones de QT en solución aumenta en los primeros tiempos hasta llegar a obtener una adsorción máxima a los 60 min, posteriormente sufre una disminución el cual puede ser atribuido al fenómeno de desorción. Para las soluciones QT-HAC con concentraciones de 0.5, 0.75 y 1 gramo de QT se observa en general que estos tratamientos presentaron problemas de difusión en los primeros tiempos de inmersión, (15 y 30 min) el cual puede deberse a la alta viscosidad que tienen estas soluciones (QT-HAC), también se puede observar que estos tratamientos presentaron mayor adsorción de la solución QT-HAC a tiempos de inmersión de 90 y 120 min, debido a que el monolito de SiO₂ estuvo en contacto con la solución más tiempo, el cual pudo llegar a los sitios activos de la superficie del monolito. En general, los tratamientos a tiempos de inmersión de 90 y 120 minutos presentaron cambios significativos de adsorción y depende de la solución QT-HAC en uso.

Con la finalidad de obtener mayor concentración de QT en los monolitos de SiO₂ se llevaron a cabo los tratamientos a 50 y 70°C con tiempos de inmersión de 90 y 120 minutos esto de acuerdo a los resultados obtenidos a 25°C, donde el mayor porcentaje de adsorción se presentó a 90 y 120 min para la mayoría de las soluciones QT-HAC.

En la Tabla 4.4 y Figura 4.9 se muestran los resultados de adsorción de la solución QT-HAC a 90 minutos de inmersión y temperaturas de 25, 50 y 70°C.

Tabla 4.4. Adsorción de la solución QT-HAC en el monolito de SiO₂ a 90 min.

Concentración de QT en HAC	% de adsorción de la solución QT-HAC		
	Temperatura °C		
	25	50	70
0 QT	6.74	9.26	1.52
0.25QT	4.75	5.53	3.0
0.5QT	4.51	5.33	2.95
0.75QT	0.74	5.31	5.29
1 QT	0.94	10.3	4.11

Como se observa en la Figura 4.9, todos los tratamientos llevados a cabo 50°C con 90 min de inmersión presentan mayor porcentaje de adsorción de la solución QT-HAC, el cual es atribuido a un proceso de difusión activo que fue favorecido por la temperatura y a la disminución de la viscosidad. Sin embargo, las muestras inmersas a temperatura de 70°C la adsorción de QT-HAC no fue favorecida, esto puede ser atribuido a que a mayor temperatura existen colisiones entre las moléculas, lo cual no permite que éstas se acomoden y por lo tanto no se fijen en el monolito de SiO₂.

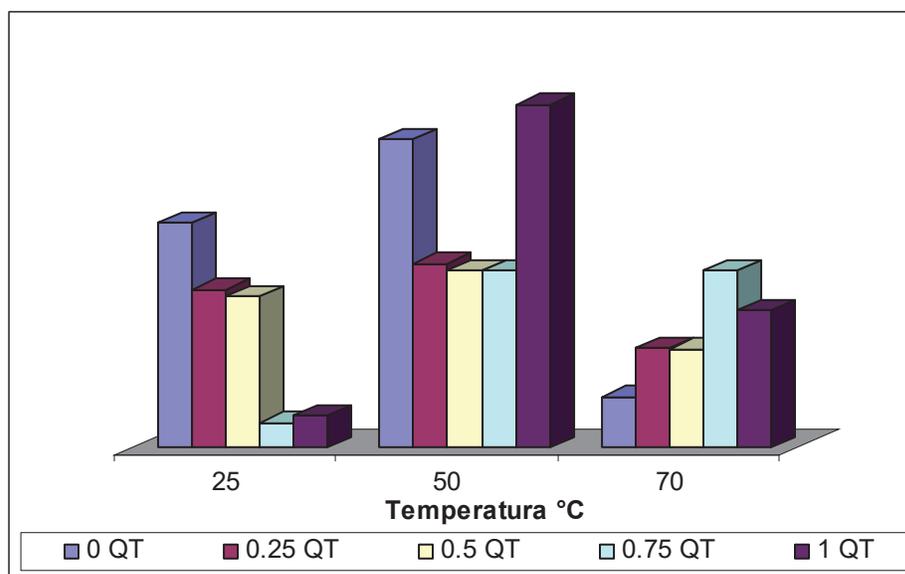


Figura 4.9. Comportamiento de adsorción de la solución QT-HAC a 90 min.

En la Tabla 4.5 y Figura 4.10 se muestran los resultados de adsorción de la solución QT-HAC obtenidos a 120 minutos y a temperaturas de 25, 50 y 70°C.

Tabla 4.5. Adsorción de la solución QT-HAC en el monolito de SiO₂ a 120 min.

Concentración de QT en HAC	% de adsorción de la solución QT-HAC		
	Temperatura °C		
	25	50	70
0 QT	12.11	10.69	7.33
0.25QT	4.85	5.67	7.37
0.5QT	4.45	6.34	7.74
0.75QT	1.12	5.44	7.12
1 QT	0.78	10.09	9.33

En los resultados obtenidos a 120 minutos de inmersión (Figura 4.10) se observa que en general conforme aumenta la temperatura los monolitos presentan mayor adsorción de la solución QT-HAC excepto para el tratamiento 70/1//120 el cual presenta una ligera disminución. Los tratamientos 50/1/90 y 50/1/120 presentaron los mayores porcentajes de adsorción, lo cual pudo

ser favorecido por la temperatura y la concentración de QT; esto es muy favorable considerando que el QT es el sustrato responsable de fijar enzimas. Aunado a lo anterior y enfatizando que el interés en nuestro trabajo es obtener materiales híbridos para su aplicación como soportes en la inmovilización de enzimas, el manejo de estos materiales biológicos es muy adecuado a temperaturas alrededor de 50°C de acuerdo a lo reportado por (Berezin y col. 1975).

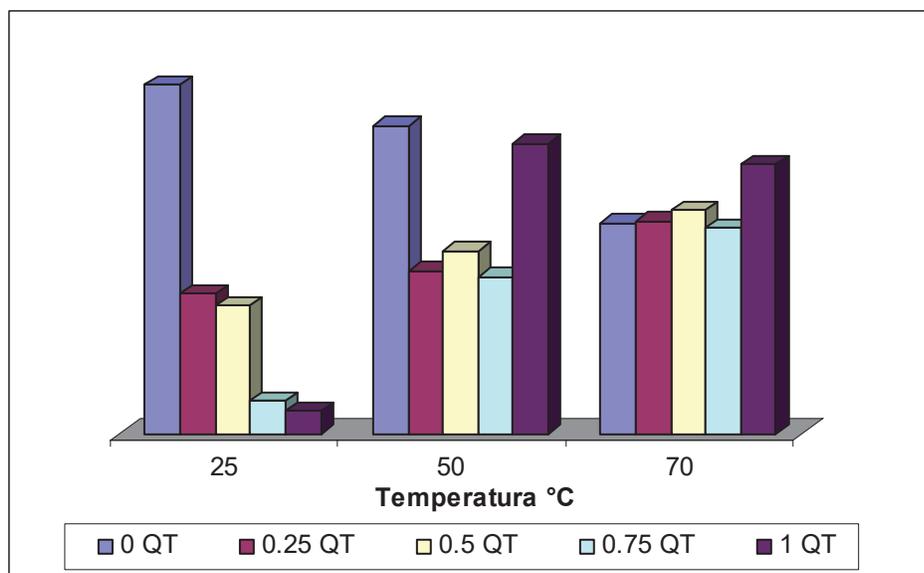


Figura 4.10. Comportamiento de la adsorción de la solución QT-HAC a 120 min.

4.3. Técnicas analíticas de caracterización

Las técnicas de caracterización empleadas fueron: Difracción de rayos X (DRX), medición del área superficial por el método BET, microscopia electrónica de barrido (SEM), espectroscopia infrarroja (FT-IR), y análisis termogravimétrico (TGA).

4.3.1. Difracción de rayos X (DRX)

En la Figura 4.11 se observa el difractograma del monolito de SiO₂ puro el cual no presenta bandas de difracción importantes, por lo que el monolito no refleja una estructura ordenada (material amorfo).

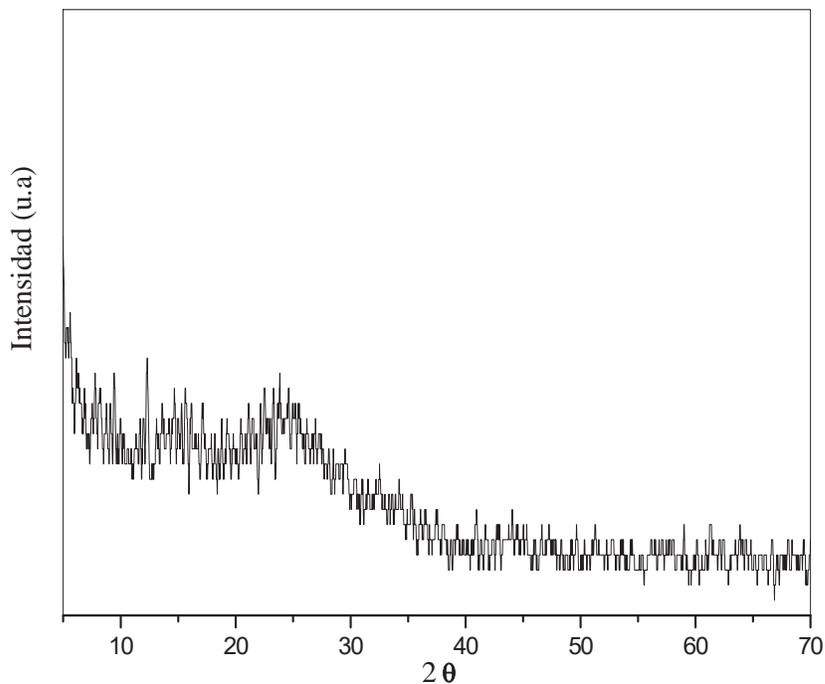


Figura 4.11. Diffractograma del material de SiO_2 .

En la Figura 4.12 se muestra el difractograma del biopolímero QT.

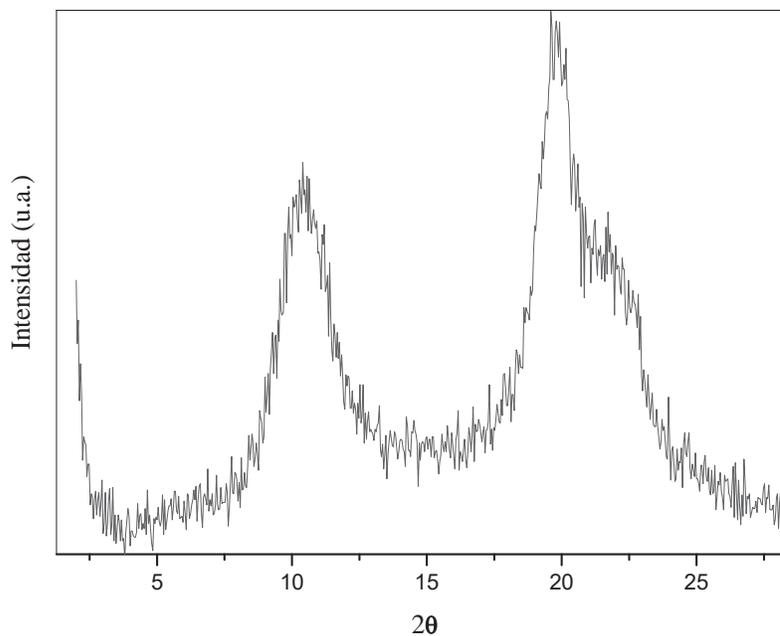


Figura 4.12. Diffractograma del biopolímero Quitosano.

Se puede observar que el difractograma del quitosano presenta comportamiento típico de una estructura cristalina a bajos ángulos de difracción. El difractograma muestra dos deflexiones importantes para el quitosano una aproximadamente a 11.3° y otra a 20° en un ángulo de 2θ , lo cual coincide con lo reportado por (Samuels, 1981) en donde el quitosano presenta dos formas cristalinas I y II ambas ortorrómbicas.

En la Figura 4.13 se muestra el difractograma del material híbrido obtenido a 50/1/120, el cual presenta regiones cristalinas o agregados con alto grado de ordenamiento a bajos ángulos que corresponden al quitosano.

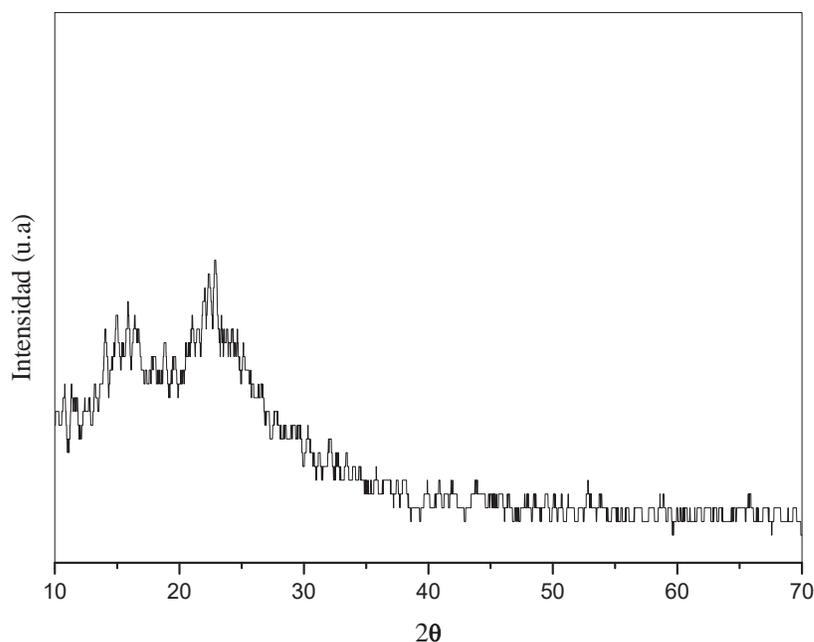


Figura 4.13. Difractograma del material híbrido 50/1/120.

4.3.2. Medición del área superficial (BET)

En la Figura 4.14 se observa la distribución de tamaño de poro del monolito de SiO_2 , el cual se encuentra alrededor de 18\AA . Esta distribución corresponde a materiales micro y mesoporosos. Así mismo el área superficial específica obtenida fue de $452.99\text{ m}^2/\text{g}$. Los materiales con estas características ofrecen grandes ventajas para ser utilizadas en procesos de inmovilización de enzimas ya que de acuerdo a lo reportado por (Dieder Moelans, 2005), un área superficial entre $300\text{-}1500\text{ m}^2/\text{g}$ es adecuada. Además bajo estas condiciones los materiales son inertes y estables a temperaturas elevadas.

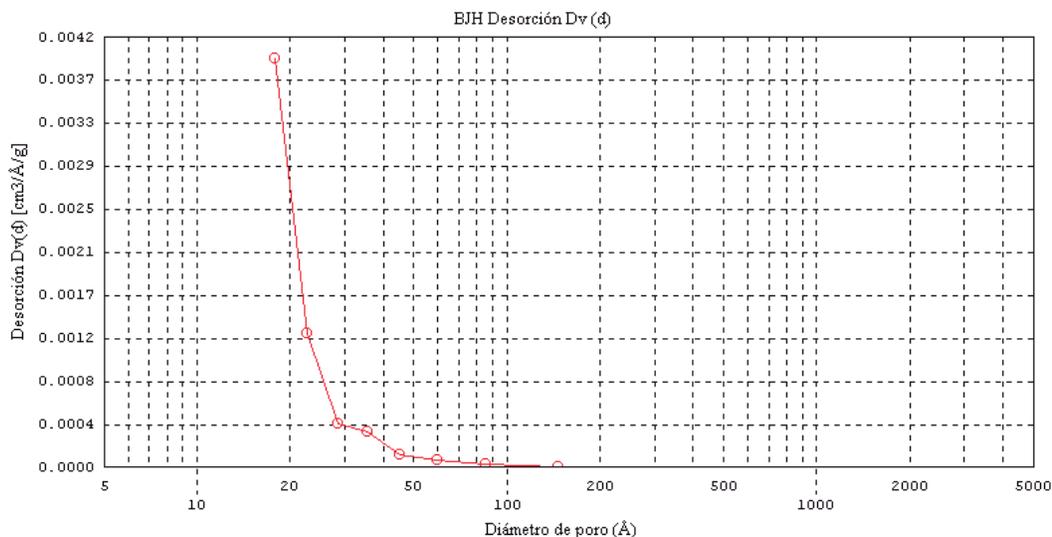


Figura 4.14. Distribución de tamaño de poro del monolito de SiO₂.

4.3.3. Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) y Análisis Químico Puntual

La Figura 4.15 muestra la imagen obtenida por microscopia electrónica de barrido de los monolitos de SiO₂ con aumentos de 500X y 1000X. Se puede observar que el material presenta una topografía de tipo irregular, evidenciado por la presencia de rugosidades o pequeñas elevaciones y poros en la superficie de la matriz polimérica, lo anterior se debe al proceso de evaporación del solvente.

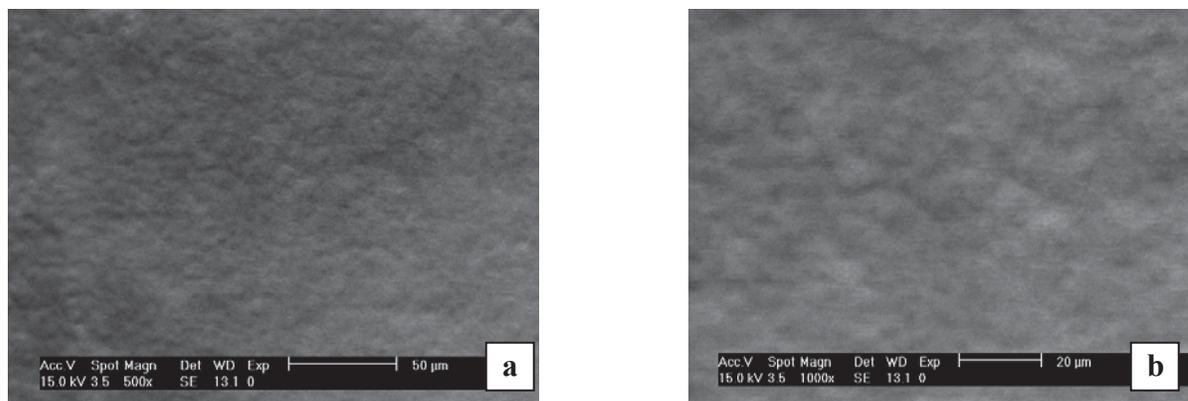


Figura 4.15. Micrografía del monólito de SiO₂. a) 500 y b) 1000 aumentos.

En la Figura 4.16 se muestra la imagen obtenida por microscopia electrónica de barrido correspondiente al Quitosano puro con aumento de 10000 X. Se puede observar una superficie

con ciertas partículas de diferentes formas y tamaños distribuidas al azar, el cual puede ser atribuido al quitosano sin disolver.

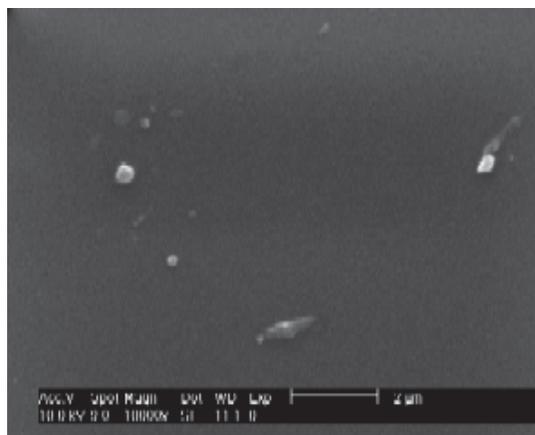


Figura 4.16. Micrografía de quitosano puro a 10000 aumentos.

4.3.3.1. Influencia de la temperatura en la adsorción de QT-HAC

En las siguientes micrografías se puede observar el efecto altamente importante que presenta *la temperatura* en la adsorción de la solución QT-HAC sobre el monolito de SiO₂.

En la Figura 4.17 se muestran las imágenes obtenidas del material híbrido 25/0.25/120, tomadas (a) 500X y (b) 5000X aumentos. Se puede observar la presencia de aglomerados con forma heterogénea sobre la superficie y distribuidas al azar, correspondientes a la presencia de Quitosano.

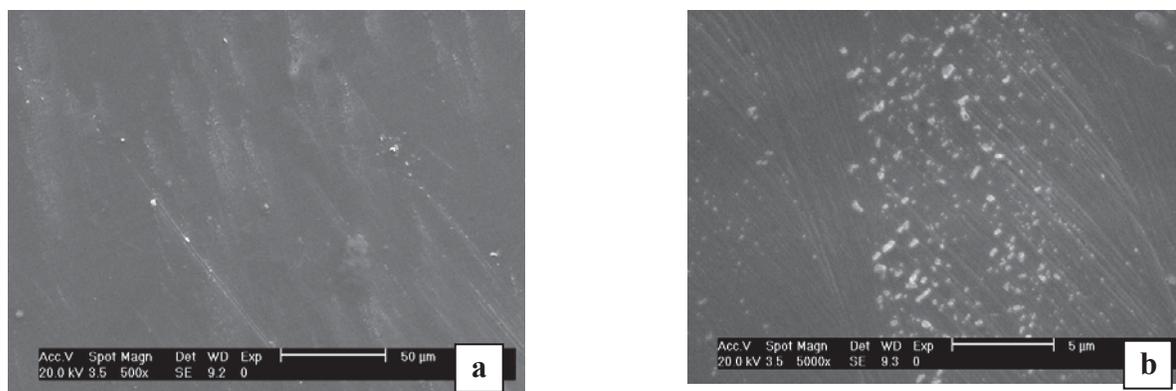


Figura 4.17. Micrografías del material híbrido 25/0.25/120. a) 500 y b) 5000 aumentos.

En la Figura 4.18 se muestran las micrografías obtenidas de los tratamientos a 50/0.25/120 tomadas (a) 500X y (b) 5000X aumentos, a diferencia de la muestra mostrada en la Figura 4.17, se puede apreciar la superficie homogénea sin la presencia de fases lo cual se relaciona con el efecto de la temperatura, sobre la difusión del quitosano a través del monolito de SiO_2 , favoreciendo la integración de ambos materiales.

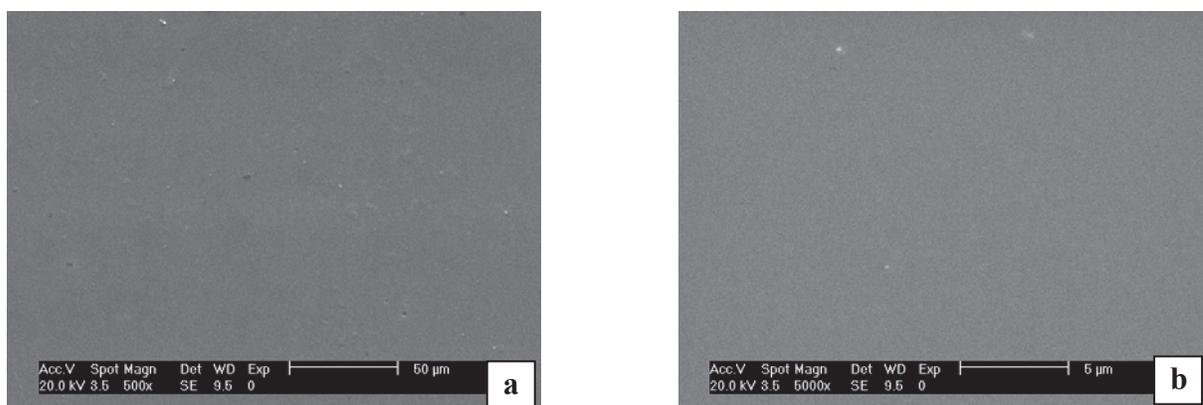


Figura 4.18. Micrografías del material híbrido 50/0.25/120. a) 500 y b) 5000 aumentos.

La Figura 4.19 muestra las imágenes obtenidas del polímero híbrido 70/0.25/120 tomadas (a) 500X y (b) 5000X aumentos, en la cual se puede apreciar una superficie altamente homogénea con lo que se corrobora el efecto de la temperatura sobre la disolución del quitosano y su difusión en el monolito de SiO_2 . Al comparar las imágenes con las mostradas en las Figuras 4.17 y 4.18 se puede ver claramente el efecto de la temperatura en concentraciones bajas de quitosano.

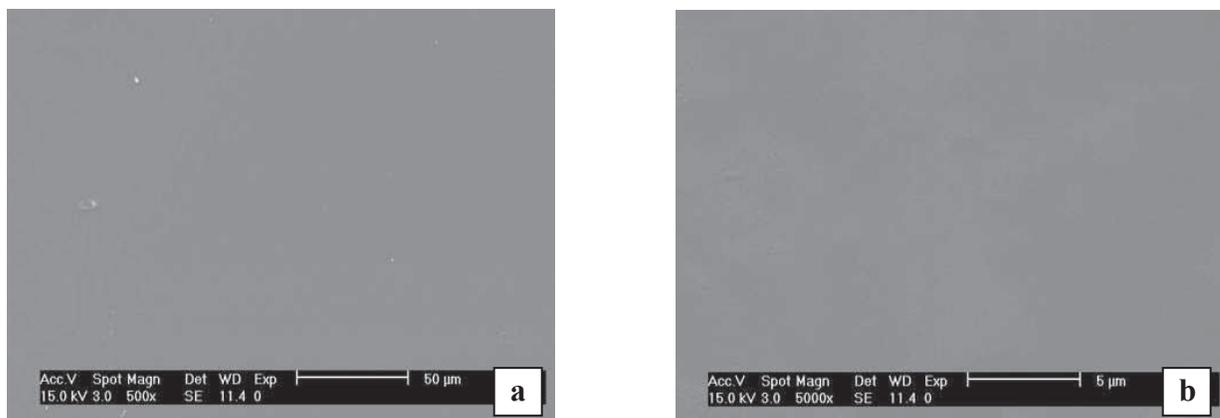
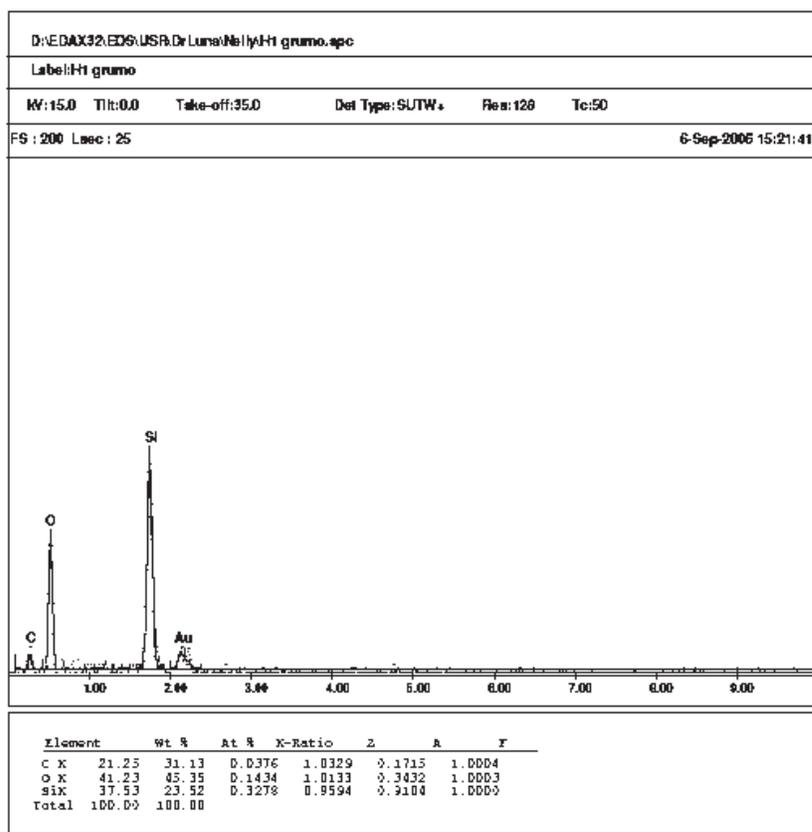


Figura 4.19. Micrografías del material híbrido 70/0.25/120. a) 500 y b) 5000 aumentos.

La Figura 4.20 muestra el análisis químico puntual para el tratamiento obtenido a 70/0.25/120, en donde se puede apreciar que la cantidad de Carbono y Oxígeno, componentes del material orgánico, se encuentran presentes en mayor proporción que el Silicio. Lo que indica que la mayor proporción de quitosano se encuentra inmerso en el monolito.



Elemento	%Peso
Carbono	21.25
Oxígeno	41.23
Silicio	37.53

Figura 4.20. Análisis químico puntual en grumos del material híbrido a 70/0.25/120.

4.3.3.2. Influencia de la concentración de QT en la adsorción QT-HAC

Las siguientes micrografías muestran el efecto que presenta *la concentración* de Quitosano para obtener una mayor adsorción del mismo.

En la Figura 4.21 se muestran las micrografías del material híbrido 50/0.25/90 tomadas (a) 500X y (b) 5000X aumentos. En las micrografías se pueden observar pequeñas partículas de diferentes tamaños distribuidas al azar sobre la superficie, las cuales corresponden al QT en aglomerados. Por lo tanto se puede observar que a bajas concentraciones de Quitosano, se obtiene

una menor adsorción de éste, lo que está de acorde a los resultados de adsorción de QT-HAC en el capítulo 4.2.3.

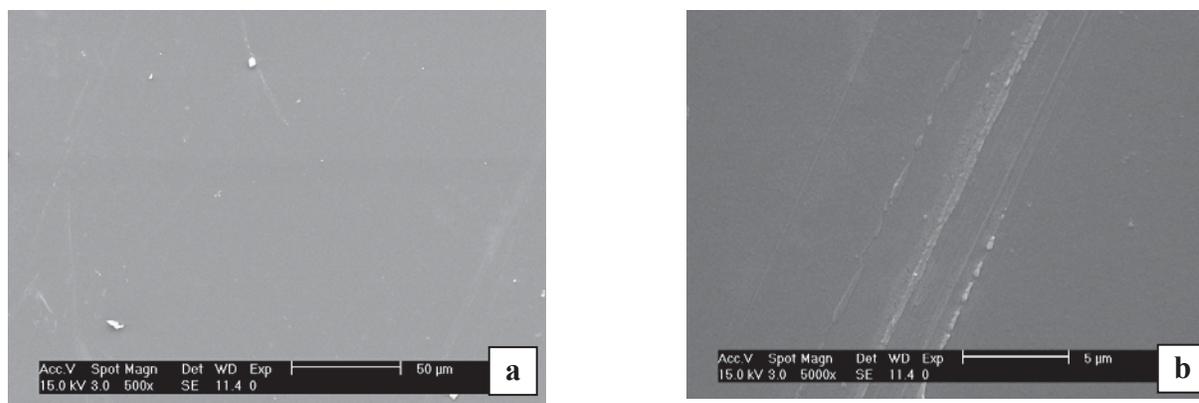


Figura 4.21. Micrografías del material híbrido 50/0.25/90. a) 500 y b) 5000 aumentos.

La Figura 4.22 muestra las micrografías del material híbrido 50/1/90 con aumentos de (a) 500X y (b) 5000X. En ellas se aprecian aglomerados en forma de partículas heterogéneas distribuidas al azar en gran parte de la superficie, comparando estas imágenes con las de la Figura 4.21, se observa que a mayor concentración de QT en solución HAC se visualiza claramente mayor cantidad de QT en la superficie del monolito de SiO_2 . Es importante aclarar que el QT disuelto es transparente, sin embargo al momento de secarse cuando éste se aglomera se observa de color blanco, lo anterior fue corroborado por el análisis químico realizado en cada una de los puntos referidos.

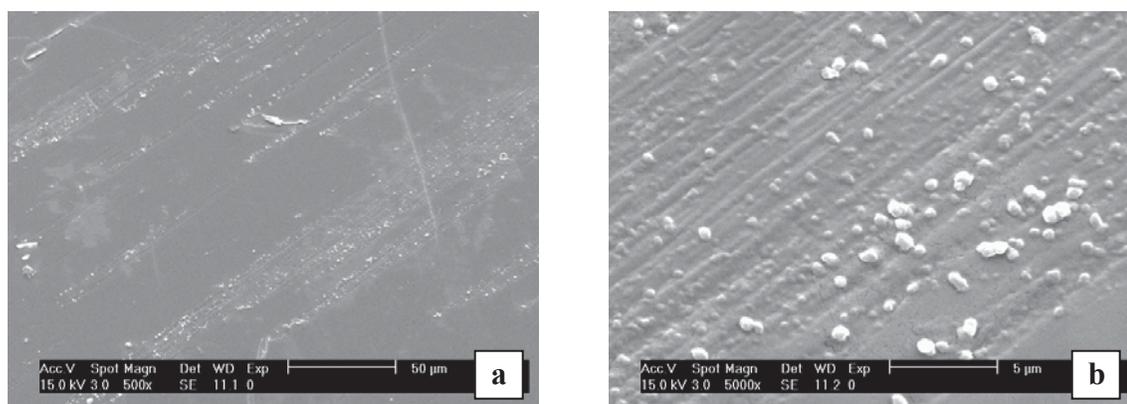
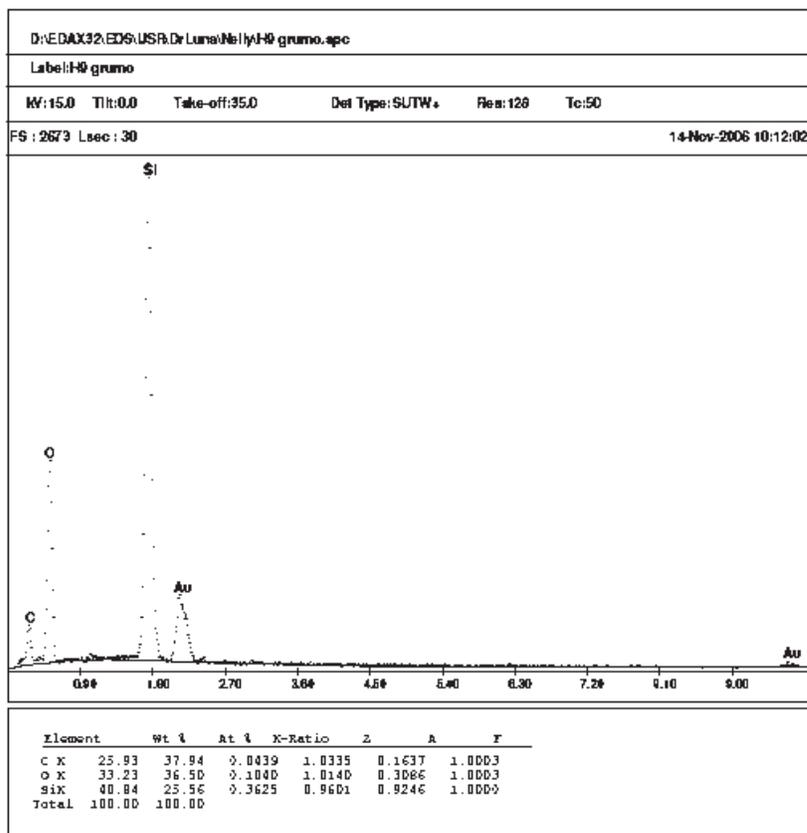


Figura 4.22. Micrografías del material híbrido 50/1/90. a) 500 y b) 5000 aumentos.

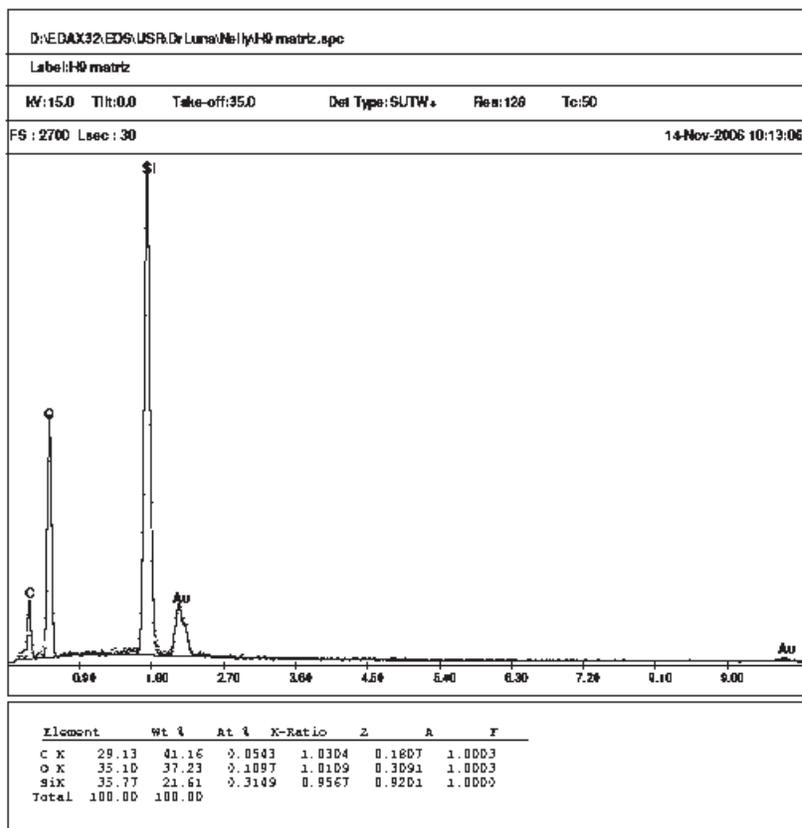
Las Figura 4.23 muestra el análisis químico puntual de un grumo para el tratamiento obtenido a 50/1/90, en el se puede apreciar a los elementos químicos que corresponden a la parte orgánica como son Carbono y Oxígeno, los cuales se encuentran presentes en mayor proporción en comparación con el Silicio de la parte inorgánica.



Elemento	%Peso
Carbono	25.93
Oxígeno	33.23
Silicio	40.84

Figura 4.23 Análisis químico puntual en grumo del material híbrido a 50/1/90.

La Figura 4.24 muestra el análisis químico puntual de la matriz a 50/1/90. Al igual que la Figura 4.23, en esta Figura se aprecia la mayor cantidad de los elementos químicos como son Carbono y Oxígeno los cuales corresponden al QT, observándose en menor proporción el silicio, lo que confirma una vez más la presencia del biopolímero en el monolito de SiO_2 .



Elemento	%Peso
Carbono	29.13
Oxígeno	35.10
Silicio	35.77

Figura 4.24 Análisis químico puntual en matriz del material híbrido 50/1/90.

En la Figura 4.25 se presentan las micrografías del material híbrido 70/1/120 con aumentos de (a) 500X y (b) 5000X.

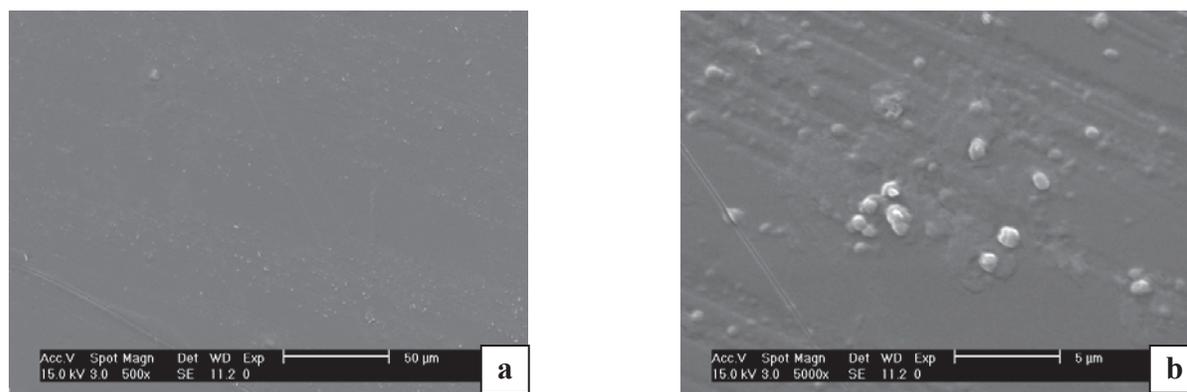
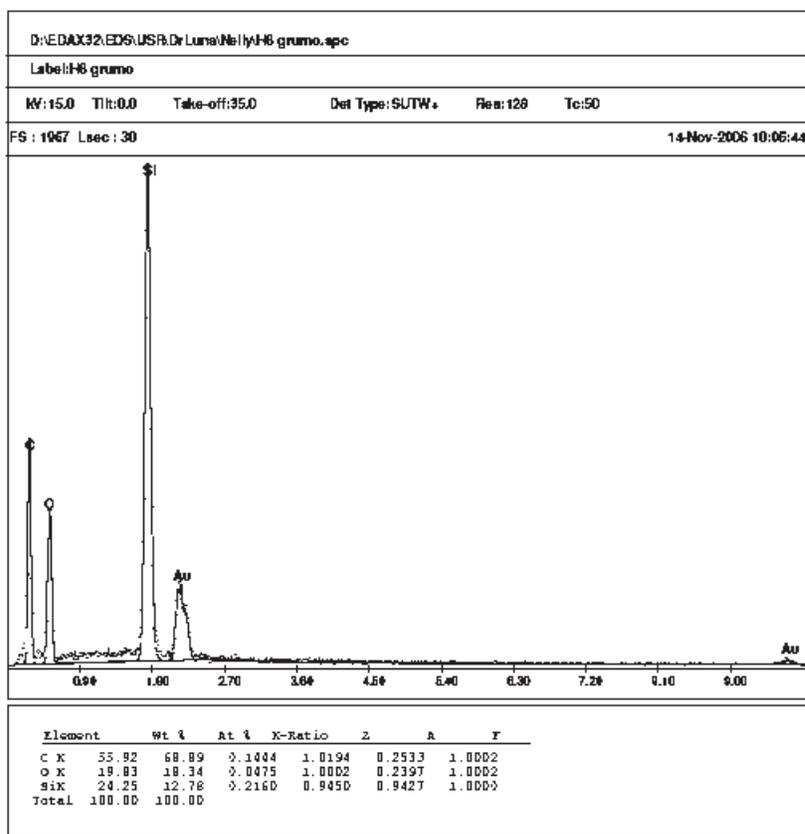


Figura 4.25. Micrografías del material híbrido 70/1/120. a) 500 y b) 5000 aumentos.

Note que estas micrografías se refiere a los tratamientos con *la más alta concentración de la solución QT-HAC, el mayor tiempo de inmersión y más alta temperatura (70° C)* en ellas se observan en general una superficie homogénea con pequeñas partículas depositadas en las imperfecciones del monolito de SiO₂. Al comparar estas imágenes con la Figura 4.22, se observa que ambas presentan similitud en sus superficies, esto debido a que tienen una alta concentración de la solución QT-HAC, además del importante efecto de la temperatura sobre el fenómeno de la difusión en este sistema.

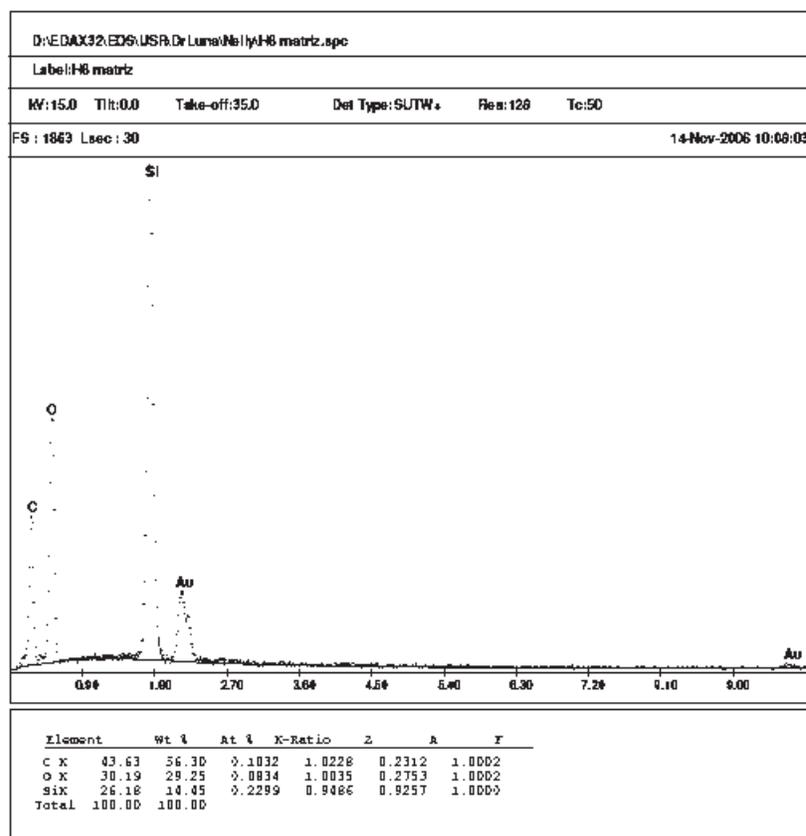
La Figura 4.26 muestra el análisis químico puntual de un grumo del material híbrido obtenido a 70/1/120, en donde se confirma la mayor cantidad de QT presente en el monolito de SiO₂, dado la cantidad de Carbono y Oxígeno que reporta el mismo. Es importante aclarar que el análisis puntual químico es una aproximación de los elementos químicos presentes en la muestra analizada, considerando que el material híbrido presenta una parte orgánica e inorgánica es razonable atribuir que el carbono y oxígeno encontrado tanto en el grumo como en la matriz corresponden al quitosano, así como el silicio que corresponde a la parte inorgánica.



Elemento	%Peso
Carbono	55.92
Oxígeno	19.83
Silicio	24.25

Figura 4.26. Análisis químico puntual en grumo del material híbrido 70/1/120.

La Figura 4.27 muestra el análisis químico puntual de la matriz del material 70/1/120. En ella se aprecia la mayor proporción de los elementos químicos del quitosano (Carbono y Oxígeno) encontrándose en menor proporción la parte inorgánica (Silicio). Al comparar los resultados obtenidos con la Figura 4.26, se confirma la presencia de QT tanto en los grumos como en la matriz del SiO_2 .



Elemento	%Peso
Carbono	43.63
Oxígeno	30.19
Silicio	26.18

Figura 4.27. Análisis químico puntual en matriz del material híbrido 70/1/120.

Las siguientes Figuras muestran las micrografías de un *corte transversal* del material híbrido 50/1/120. La Figura 4.28 (a) se refiere a una micrografía tomada a 1000X aumentos en la cual se muestra la parte interna y externa del monolito en donde se identifica la fase correspondiente al quitosano en la cara lateral izquierda correspondiendo a la parte intermedia al monolito de SiO_2 y la fibras salientes laterales en el lado derecho a quitosano removido por el corte. En la micrografía a 6500X (Figura 4.28b) se observa la mayor cantidad del biopolímero QT formando una capa sobre el SiO_2 . Lo anterior fue corroborado por el análisis químico puntual en la zona interna de la muestra.

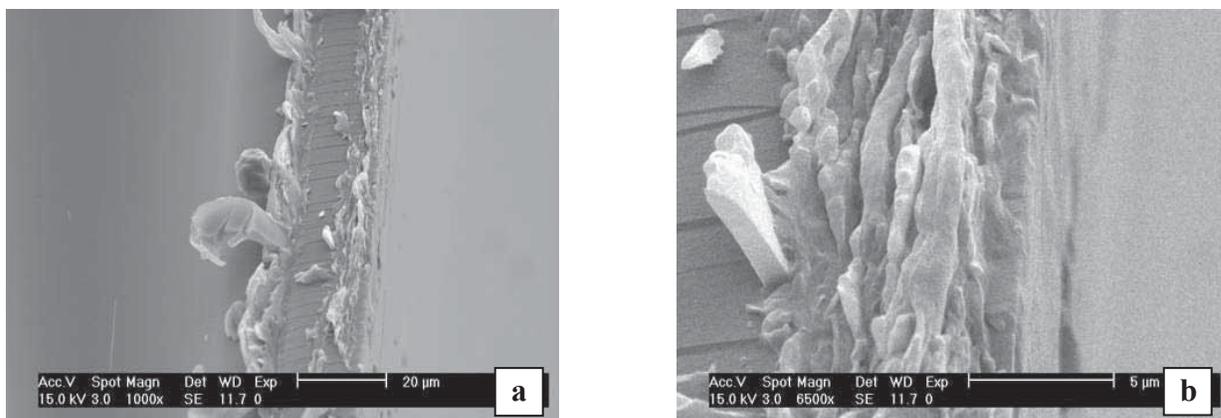


Figura 4.28. Micrografías de corte transversal del material híbrido 50/1/120. a) 1000 y b) 6500 aumentos

La Figura 4.29 (a) con aumento de 12000X y (b), a 20000X respectivamente, muestran el acercamiento a la zona intermedia de la Figura 4.28 correspondiente al SiO_2 , esto se realizó, con la finalidad de visualizar aglomerados de QT, sin embargo solamente se observa rugosidad con una sola fase, ante esto no se descarta la presencia de QT en el interior de los monolitos, dado que el análisis químico puntual de la Figura 4.30 muestra la presencia del mismo aunque en bajas proporciones. Enfatizando que la mayor concentración de QT se localizó en la superficie del monolito de SiO_2 por lo cual se consideró como un fenómeno de adsorción.

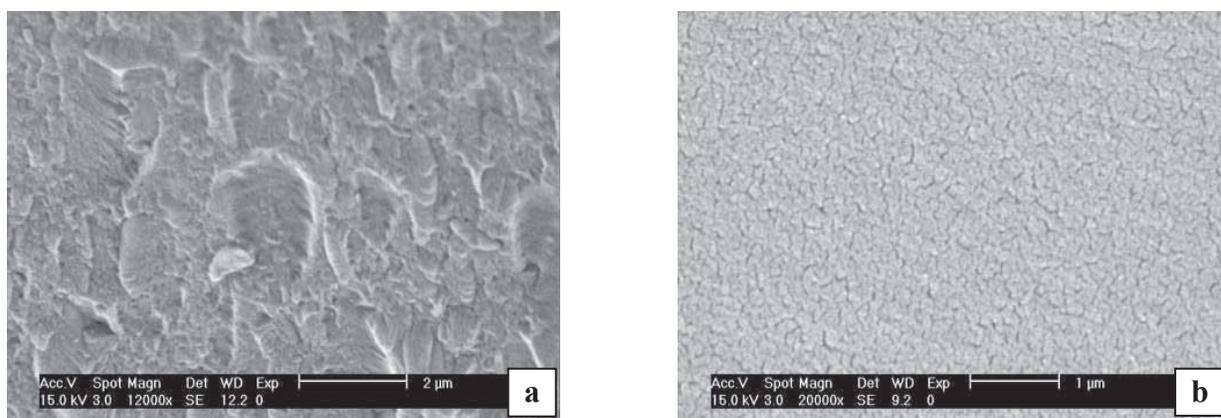
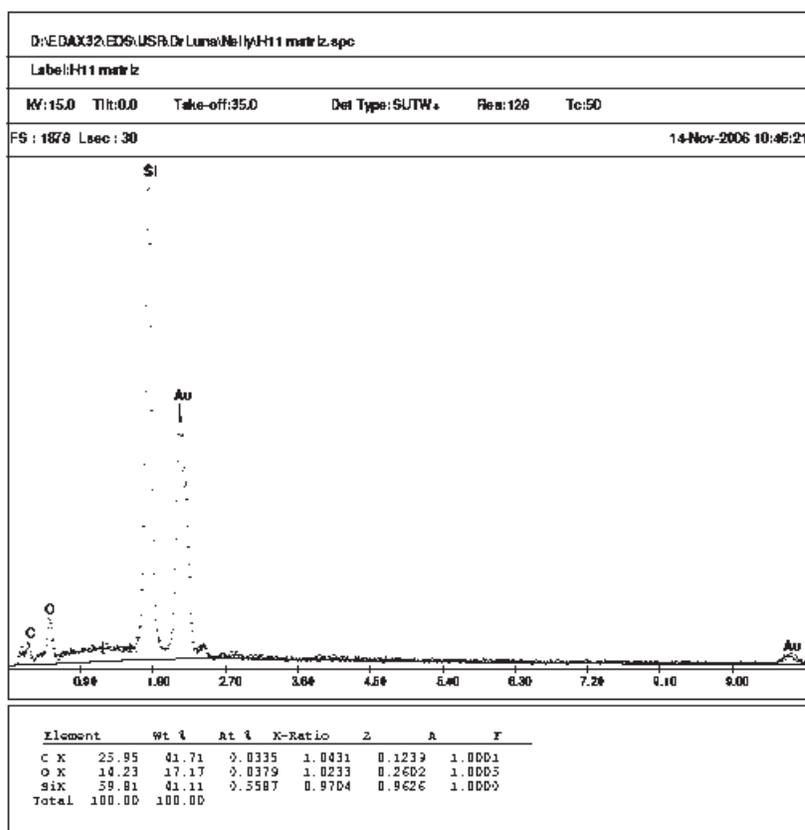


Figura 4.29. Micrografías de corte transversal del material híbrido 50/1/120. a) 12000 y b) 20000 aumentos.

En la Figura 4.30 muestra el análisis químico puntual del corte transversal correspondiente al material híbrido obtenido a 50/1/120, el análisis se realizó en la zona intermedia de la muestra en donde se observa que el Silicio tiene el mayor porcentaje (59.81 %) con respecto a los elementos químicos que componen al quitosano. Lo cual confirma lo descrito en la micrografía del material híbrido 50/1/120 de la Figura 4.29 con respecto al fenómeno de adsorción.



Elemento	%Peso
Carbono	25.95
Oxígeno	14.23
Silicio	59.81

Figura 4.30. Análisis químico puntual en matriz del material híbrido 50/1/120.

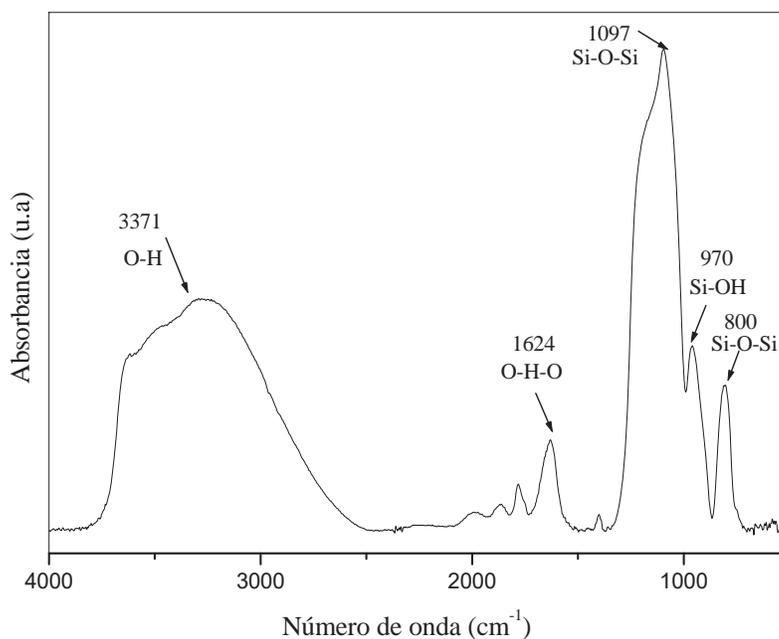
4.3.4. Espectroscopia infrarroja (FT-IR)

La Tabla 4.6 muestra la región de absorción de las vibraciones características del SiO_2 así como las absorciones experimentales, donde ν =tensión, δ =deformación a=asimétrica, s=simétrica.

Tabla 4.6. Regiones de absorción de las vibraciones del SiO₂ puro.

Grupo	Vibración	Posición aproximada cm ⁻¹	Frecuencias experimentales cm ⁻¹
O-H	ν_s	3000-3750	3371
H-O-H	δ	1620-1650	1624
Si-O-Si	ν_a	1000-1250	1097
Si-OH	ν_s	900-980	970
Si-O-Si	ν_s	800-850	800

La Figura 4.31 muestra el espectro infrarrojo del monolito de SiO₂, en el que se observan las bandas de absorción más características del SiO₂.

Figura 4.31. Espectro infrarrojo del monolito de SiO₂.

A 3371cm⁻¹ se encuentra el grupo hidróxilo, el cual presenta una frecuencia de vibración de tensión simétrica fundamental de estiramiento, que corresponde a la presencia de humedad en las muestras. La banda de 1624 cm⁻¹ es asignada a la deformación de agua molecular (Orcel y col. 1986), resultado de las deformaciones angulares de O-H en H₂O. A 1097 cm⁻¹ se observa

claramente la banda principal y la más intensa del espectro del SiO₂ que corresponde al grupo siloxano (Si-O-Si), con una vibración de tensión asimétrica. En 970 cm⁻¹ se encuentra un pico que está asociado con una vibración de tensión simétrica de los grupos silanoles Si-OH (Gottardi, y col. 1984). En 800 cm⁻¹ se localiza el grupo siloxano con una vibración de tensión simétrica del átomo de O.

En la Tabla 4.7 se muestran las regiones de absorción más características del biopolímero (quitosano), así como las frecuencias experimentales, donde ν =tensión, δ =deformación, ω =vibración de balanceo, a=asimétrica, s=simétrica.

Tabla 4.7. Regiones de absorción de las vibraciones del quitosano puro (Sócrates, 1994).

Grupo	Vibración	Posición aproximada cm ⁻¹	Frecuencias experimentales cm ⁻¹
OH	ν	3370±50	3400
-CH	ν_s	2870±45	2889
NH ₂	δ	1550±50	1560
-CH ₂ -	δ_a	1425±15	1417
-CH-	ω	1365±35	1366
-C-O-C	ν_a	1150-1160	1160
-C-O-C	$\nu_a \nu_s$	1070-1140	1080

La Figura 4.32 muestra las bandas y picos de absorción más características correspondientes al quitosano puro.

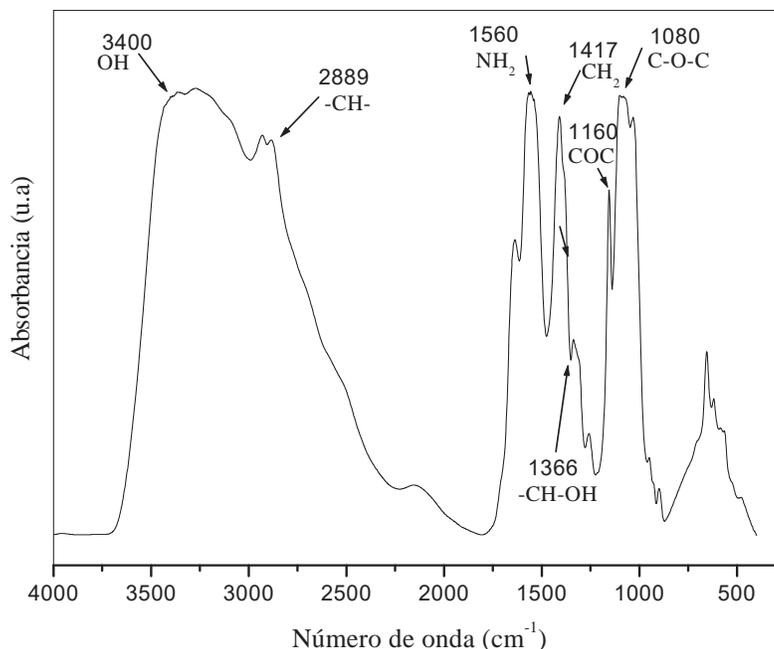


Figura 4.32. Espectro infrarrojo correspondiente al quitosano puro.

A 3400 cm^{-1} se encuentra el grupo hidroxilo del biopolímero, esta banda presenta una frecuencia de vibración de tensión. A 2889 cm^{-1} se localiza el grupo $-\text{CH}-$ con una frecuencia de vibración simétrica. En la señal de 1560 cm^{-1} se encuentran la banda característica con modo de estiramiento correspondiente al grupo amino. A 1417 cm^{-1} se localiza la señal a la cual se le atribuye un radical metileno que presenta una tensión de deformación asimétrica. En la señal 1366 cm^{-1} se ubica el grupo $-\text{CH}-$ unido al grupo hidroxilo con una frecuencia de vibración de balanceo. En la señal de 1160 cm^{-1} se encuentra el grupo $-\text{C-O-C}-$ con una frecuencia de tensión asimétrica. En la banda de 1080 cm^{-1} se le atribuye a un enlace de anillo cíclico $-\text{C-O-C}-$ en el cual las frecuencias se relacionan a las vibraciones simétricas y asimétricas.

La Figura 4.33 muestra el espectro infrarrojo del material híbrido a 25/0.25/120. La señal a 3272 cm^{-1} , representa la existencia del grupo funcional OH con una vibración de tensión, el cual está presente en la fase inorgánica del material, a 1638 cm^{-1} se observa un pico intenso con un modo de estiramiento, el cual corresponde al grupo NH_2 del biopolímero QT. La señal en 1095 cm^{-1} muestra un pico intenso que corresponde a la presencia del grupo siloxano (Si-O-Si) con una frecuencia de vibración de tensión asimétrica; a 965 cm^{-1} corresponde a grupos Si-OH (silanoles) con vibración de tensión simétrica Finalmente la banda localizada a 809 cm^{-1} se

presenta nuevamente el grupo siloxano (Si-O-Si) con una vibración de tensión simétrica del átomo de O.

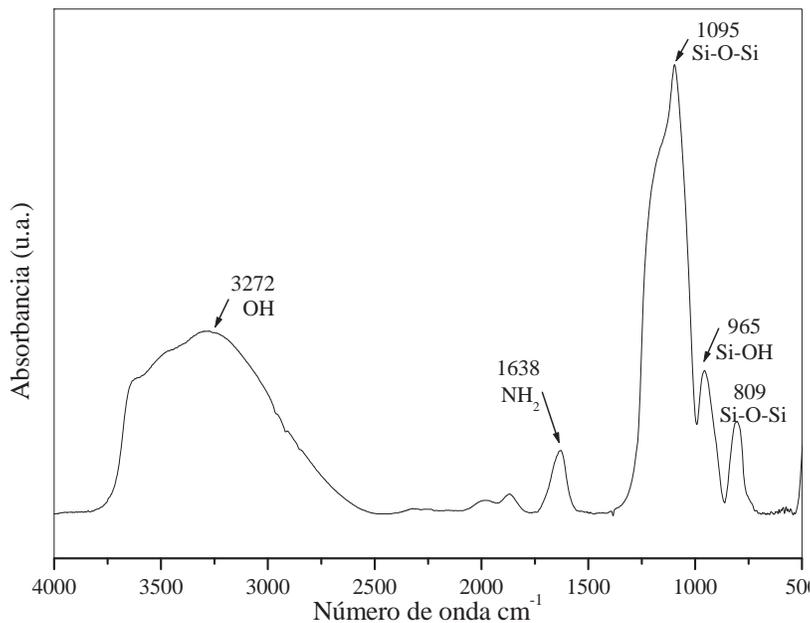


Figura 4.33. Espectro infrarrojo del material híbrido 25/0.25/120.

La Figura 4.34 muestra el espectro infrarrojo del material híbrido obtenido a 50/0.25/120.

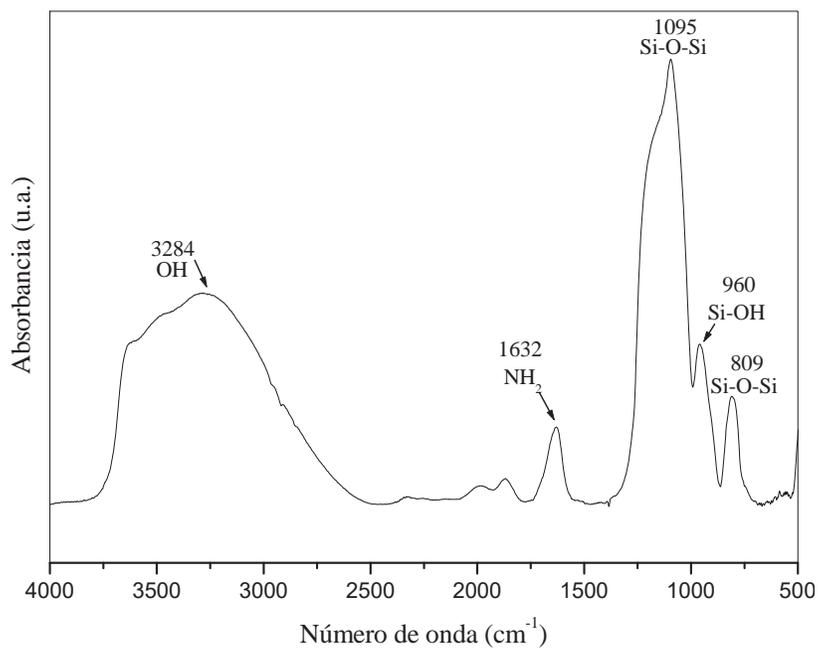


Figura 4.34. Espectro infrarrojo del material híbrido 50/0.25/120.

La señal a 3284 cm^{-1} , representa la existencia del grupo funcional OH correspondiente al material orgánico. Comparado con la muestra 25/0.25/120 (Figura 4.33) a 1632 cm^{-1} se observa un pico intenso con modo de estiramiento, que corresponde al grupo amino lo cual corrobora una mayor adsorción de la solución QT-HAC debido al incremento de temperatura. La señal en 1095 cm^{-1} muestra un pico muy intenso que corresponde a la presencia del grupo siloxano (Si-O-Si). La señal a 960 cm^{-1} corresponde al grupo Si-OH con una frecuencia de vibración de tensión simétrica. Finalmente la banda localizada a 809 cm^{-1} representa el grupo siloxano (Si-O-Si) con una vibración de tensión simétrica.

En la Figura 4.35 se observan las señales más significativas del material híbrido 25/0.75/120, correspondientes a la presencia del SiO_2 y QT.

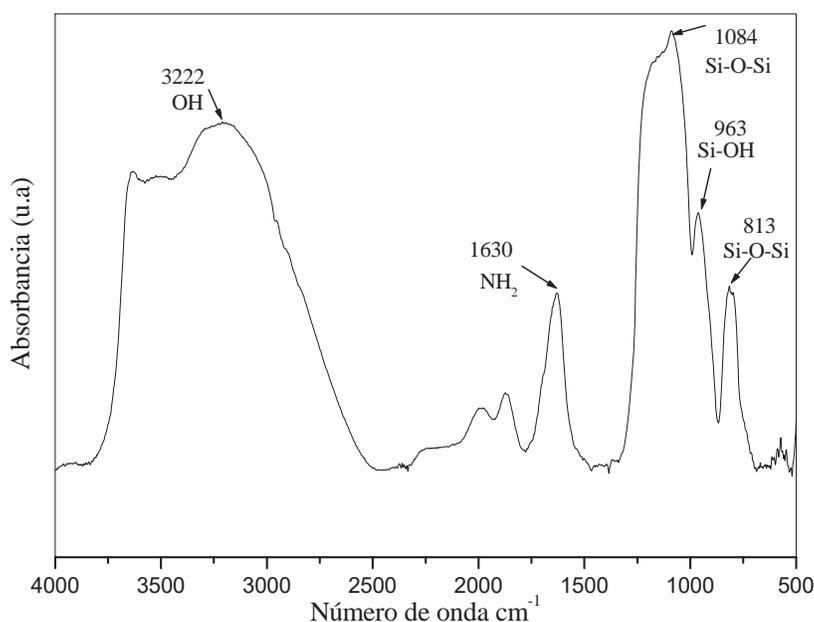


Figura 4.35. Espectro infrarrojo del material híbrido 25/0.75/120.

En las señales indicadas se puede establecer que el pico 3222 cm^{-1} , representa la existencia del grupo funcional OH, el cual está presente en la fase orgánica y comparando esta señal con la Figura 4.34 se observa que presenta un pico más intenso debido a la existencia de grupos hidroxilos provenientes del quitosano. Referente al grupo NH_2 cuya banda se presenta a

1630 cm^{-1} la adsorción de QT-HAC es mayor comparada con la Figura 4.33, debido a que el tratamiento 25/0.75/120 tiene mayor concentración de QT.

La presencia de la parte inorgánica en el material híbrido se puede establecer mediante el pico de absorción localizado a 1084 cm^{-1} , el cual muestra la presencia del grupo Si-O-Si con una frecuencia de vibración de tensión asimétrica, y similar a los tratamientos de las Figuras 4.33 y 4.34, así mismo la banda localizada a 963 cm^{-1} con una frecuencia de vibración simétrica se encuentra el grupo silanol. (Si-OH). A 813 cm^{-1} se encuentra el grupo siloxano con una vibración de tensión simétrica.

En la Figura 4.36 se muestran las señales del material híbrido 25/1/120, observándose señales de absorción correspondientes a la presencia del SiO_2 y quitosano.

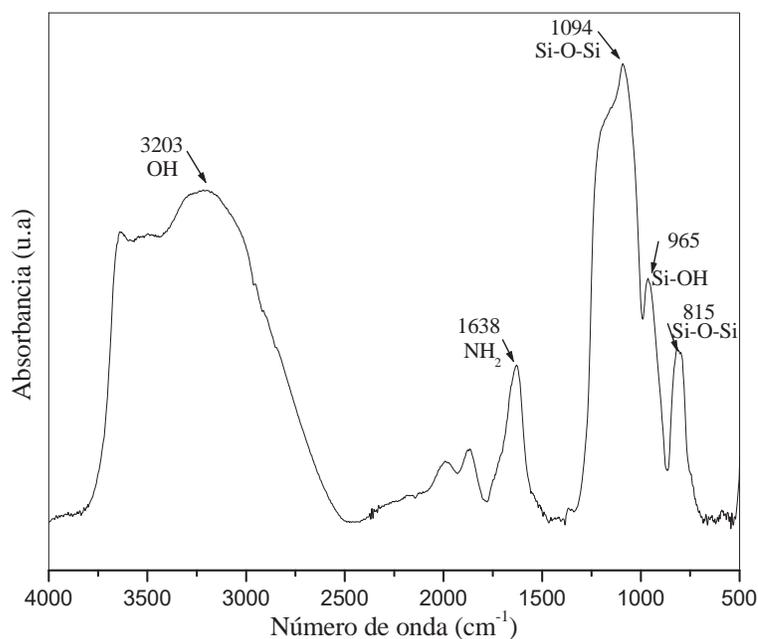


Figura 4.36. Espectro infrarrojo del material híbrido 25/1/120.

La señal localizada a 3203 cm^{-1} , muestra la existencia del grupo funcional hidroxilo (OH), que corresponde a la parte orgánica e inorgánica. A 1638 cm^{-1} se localiza el grupo amino (NH_2) que corresponde al biopolímero. La absorción localizada a 1094 cm^{-1} y 815 cm^{-1} se muestra la presencia del grupo siloxano (Si-O-Si) correspondiente a la matriz inorgánica con una

frecuencia de vibración de tensión asimétrica y simétrica, en igual intensidad que la muestra descrita en la Figura 4.35 la banda de absorción localizada a 965 cm^{-1} corresponde nuevamente al grupo Si-OH.

En la Figura 4.37 se presenta una comparación de espectros obtenidos a la misma concentración de QT, mismo tiempo de inmersión pero diferentes temperaturas.

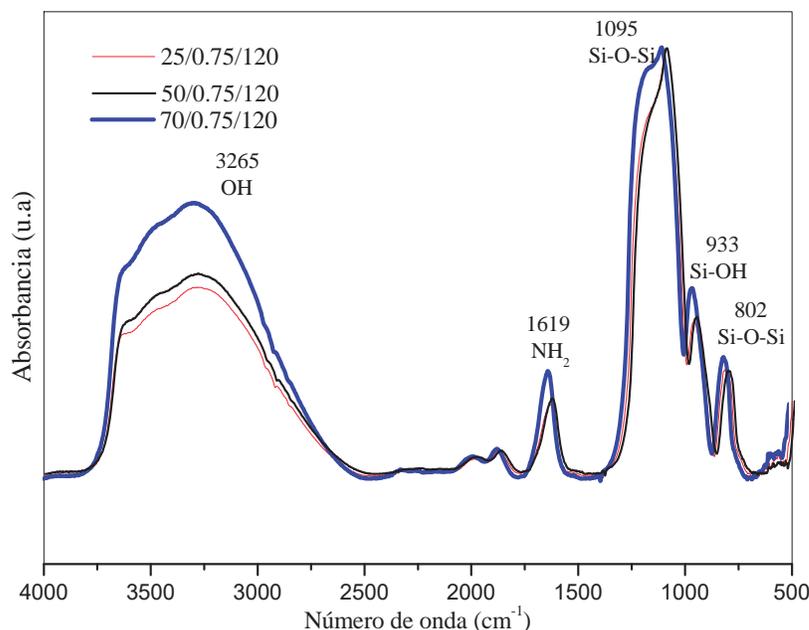


Figura 4.37. Comparación de temperatura en espectros de los materiales híbridos.

Como se puede observar en los espectros se mantiene constante la concentración de QT en solución HAC, los tiempos de inmersión y solamente variando la temperatura, en ellas se puede observar un efecto importante en la adsorción el cual es provocado por la temperatura ya que a más alta temperatura las intensidades correspondientes a los grupos OH, NH₂ se incrementan en forma proporcional a la temperatura, lo cual indica que se tiene mayor adsorción de QT en el monolito.

La Figura 4.38 muestra los espectros obtenidos de los diferentes materiales híbridos manteniendo constante la temperatura y los tiempos de inmersión, pero variando la concentración de QT. Se puede apreciar que las bandas de absorción características correspondientes a los

grupos OH, NH₂, propios del quitosano son más intensas cuando se incrementa la concentración de QT, lo cual indica mayor adsorción de la solución QT-HAC sobre la superficie del monolito.

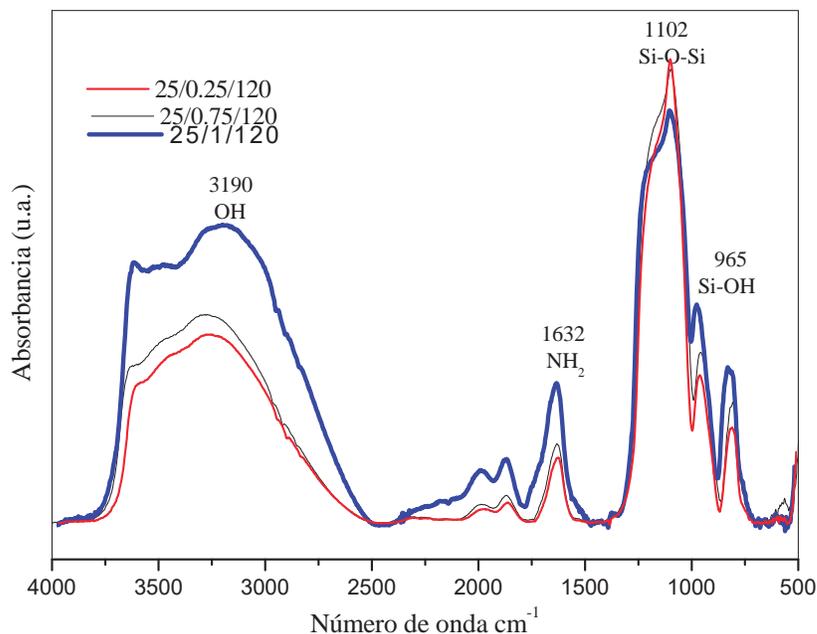


Figura 4.38. Comparación de concentración en espectros de los materiales híbridos.

4.3.5. Análisis Termogravimétrico (TGA)

La Figura 4.39 muestra el termograma de TGA del material híbrido 25/1/90, en un intervalo de 50-500°C. En él se observa una importante pérdida en peso de 2.63 mg que inicia a los 50 °C, haciéndose evidente a los 86.68 °C, que es atribuido principalmente a restos de humedad que fue adsorbida del ambiente. Después de los 110°C hay una caída de peso la cual puede ser debida a material con menos volatilidad que el agua. Posterior a los 250°C se localiza un descenso de peso que es atribuido al quitosano. La caída en peso se prolonga hasta los 450 °C durante esta fase se presentan los procesos de depolimerización parcial y total del material orgánico.

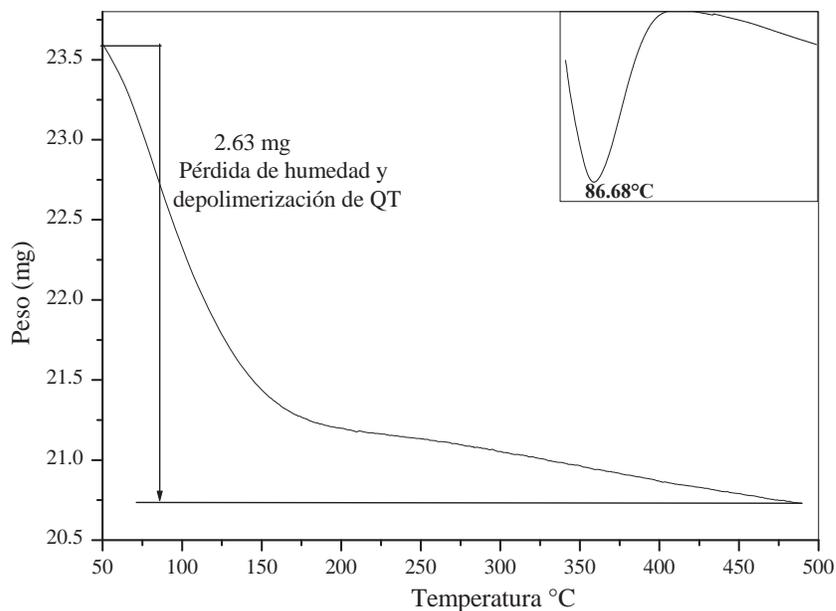


Figura 4.39. Termograma del material híbrido 25/1/90.

La Figura 4.40 muestra el termograma de TGA del material híbrido 50/1/90.

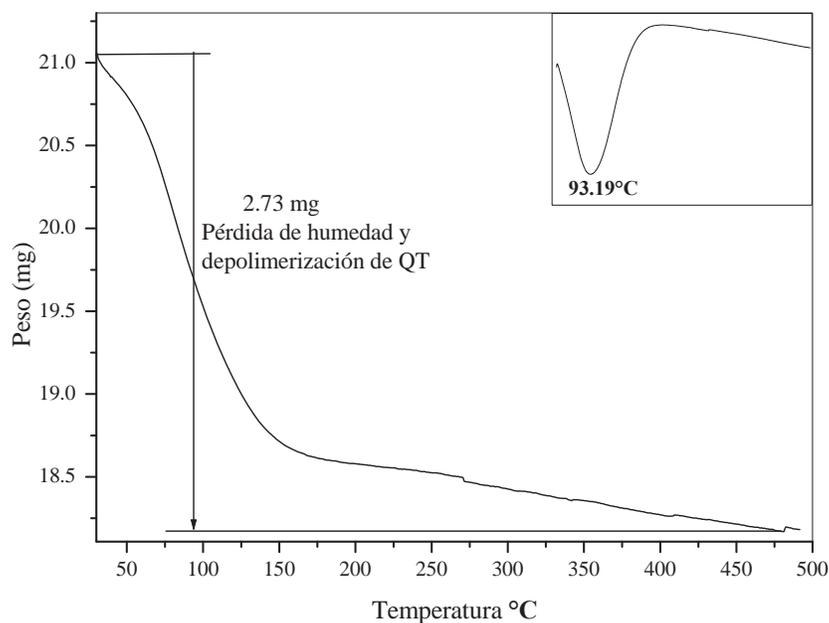


Figura 4.40. Termograma del material híbrido 50/1/90.

En el se observa una importante pérdida en peso de 2.73 mg los cuales se deben al remanente de agua que no se pudo extraer con el vacío y a la depolimerización del quitosano,

comparando con la Figura 4.39, se puede advertir que la pérdida en peso del tratamiento 50/1/90 es mayor que la anterior, debido a que en este tratamiento a temperatura mayor se logró mayor adsorción de la solución QT-HAC lo cual corrobora los resultados obtenidos por SEM.

La Figura 4.41 muestra el termograma de TGA del material híbrido obtenido a 70/1/90, en el cual se tuvo una pérdida en peso de 2.97 mg, que corresponde a remanente de agua y depolimerización de QT, la cual es proporcional a la concentración de QT. Al comparar este resultado con los obtenidos en los tratamientos de las Figuras 4.39 y 4.40 se puede confirmar que a mayor temperatura se logró una mejor adsorción del QT sobre el monolito de SiO_2 .

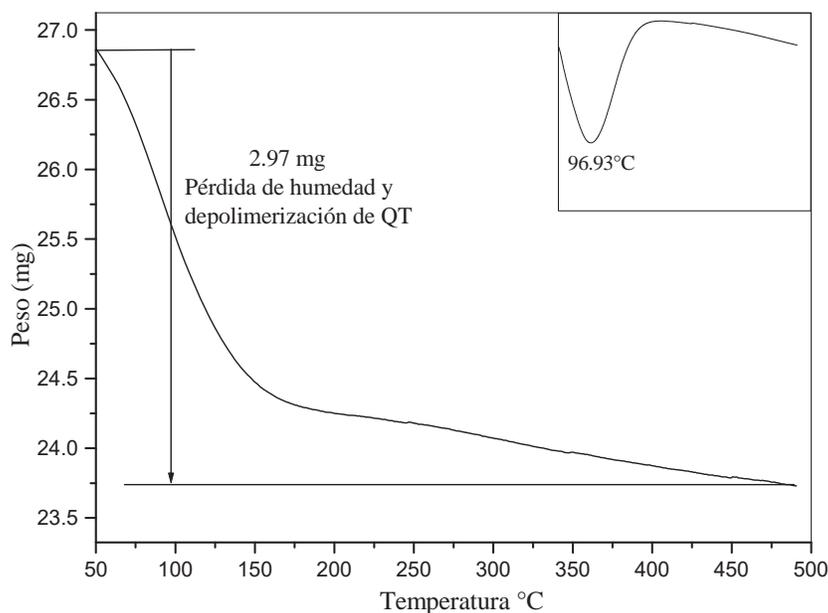


Figura 4.41. Termograma del material híbrido 70/1/90.

La Figura 4.42 muestra el termograma del material híbrido 50/0.25/90, al comparar con la derivada (DTA), en el recuadro superior derecho, se puede observar que la mayor pérdida en peso se obtuvo a 83.16 °C con 1.32 mg que corresponden a residuos de humedad, depolimerización y degradación del quitosano. Si se compara este tratamiento con el mostrado en la Figura 4.40 (tratamiento 50/1/90) se puede observar que el monolito es capaz de adsorber una cantidad mayor de QT a las mismas condiciones de temperatura y tiempo de residencia.

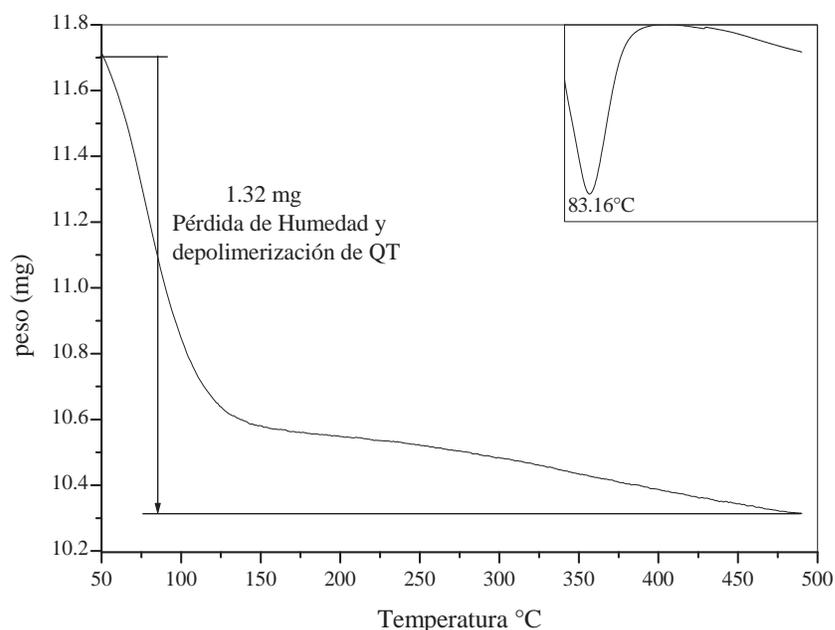


Figura 4.42. Termograma del material híbrido 50/0.25/90.

En la Figura 4.43 se muestra el termograma de TGA para el material híbrido obtenido a 50/0.75/90.

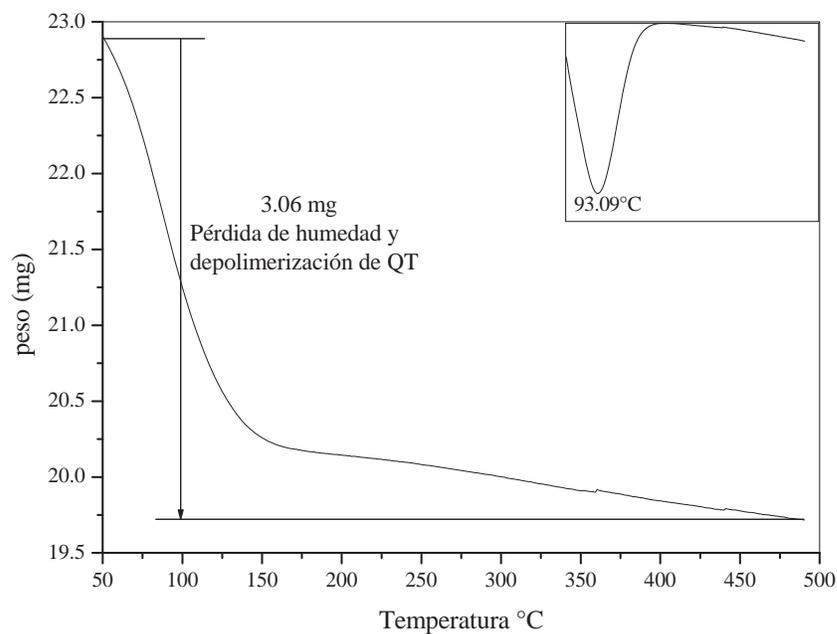


Figura 4.43. Termograma del material híbrido 50/0.75/90.

En el se puede observar una pérdida en peso de 3.06 mg correspondiente a la parte orgánica del material. Al comparar el resultado obtenido con la Figura 4.42 claramente se puede advertir

una variación importante en la pérdida de quitosano, la cual indica que se pueden obtener altas adsorciones de quitosano en los monolitos de SiO_2 , a 50°C sin variación del tiempo de inmersión. Lo anterior va acorde a los resultados obtenidos en los análisis por SEM y el análisis químico puntual.

La Figura 4.44 muestra los termogramas de TGA obtenidos de los materiales híbridos, a) 70/1/90 y b) 70/1/120. En la Figura a) se tiene una pérdida en peso de 2.97 mg a una temperatura de 96.93°C . La Figura b) presenta una pérdida en peso de 2.24 mg a 96.89°C . Como se observa en ambos tratamientos la derivada (DTA) localizada en el recuadro superior derecho, la mayor pérdida se presenta a la misma temperatura (96°C) lo que advierte que el material híbrido presenta el mismo comportamiento térmico aun cuando se varié el tiempo de inmersión. Comparando estos resultados con los obtenidos en los termogramas anteriores se puede observar que el tiempo de inmersión no tiene un efecto significativo como la temperatura y la concentración de QT.

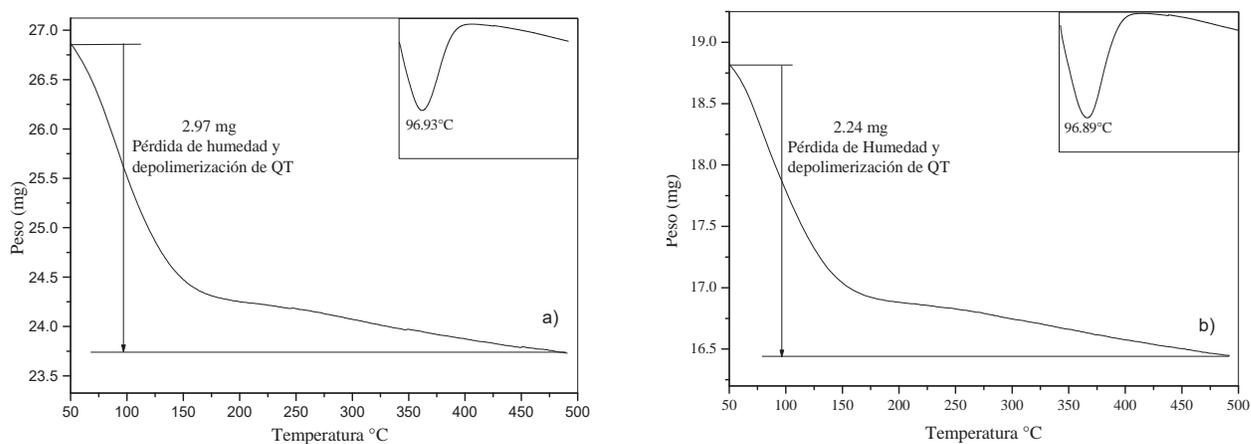
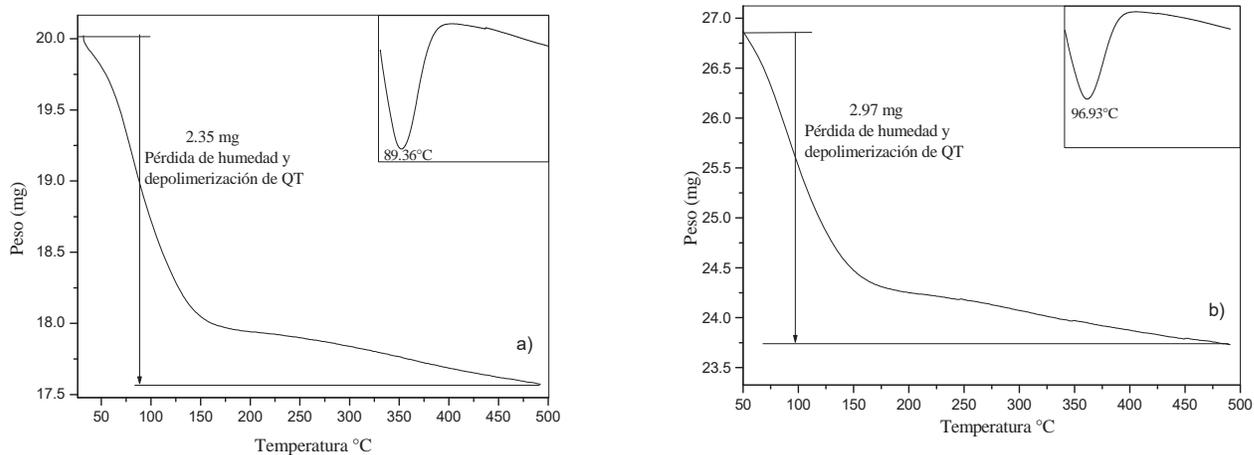


Figura 4.44. Termogramas del material híbrido variando tiempo. a)70/1/90 y b)70/1/120.

La Figura 4.45 muestra los termogramas de TGA de los materiales híbridos obtenidos a, a) 70/0.75/90 y b) 70/1/90 en un intervalo de $50\text{-}500^\circ\text{C}$. En la Figura a) se tiene una pérdida en peso de 2.35 mg y en b) de 2.97 mg, ambas pérdidas corresponden a la depolimerización del QT. Como se puede apreciar en la derivada (DTA) del recuadro superior derecho existe una diferencia

de temperatura a la cual se obtuvo la mayor pérdida. Se puede atribuir esta diferencia a la cantidad de QT adsorbido sobre el monolito, tal como se presentó en el apartado 4.2.3.



**Figura 4.45. Termogramas del material híbrido variando concentración a)70/0.75/90
b)70/1/90.**

Se puede decir, que independientemente de los tratamientos involucrados para la síntesis de los materiales híbridos, el comportamiento en pérdida de peso es similar para la mayoría de los materiales, esto se puede atribuir a la estabilidad que presenta el monolito de SiO_2 .

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se obtuvieron los materiales híbridos, en el cual se estudió la influencia que tiene la concentración de la solución QT-HAC, la temperatura y el tiempo de inmersión. Con los resultados obtenidos se pudo determinar que los tratamientos que presentaron mayor adsorción QT-HAC fueron 50/1/90, 50/1/120, 70/1 /120 lo cual indica que los efectos más importante para el fenómeno de adsorción son la temperatura y la concentración de la solución QT-HAC.

Los resultados obtenidos de adsorción de QT-HAC muestran que es aceptable la hipótesis planteada, debido a se obtuvieron los mejores resultados a las temperaturas mas altas, concentraciones mayores de QT, y que muestran una independencia a los tiempos de inmersión mayores (90 y 120 min).

Por Difracción de Rayos X se reporta que el monolito de SiO_2 presenta el comportamiento de un material amorfo (desordenado), lo cual resulto favorable para la adsorción de quitosano debido a la reactividad de grupos hidroxilos ($-\text{OH}$), esto se corroboró mediante los análisis de espectroscopia infrarroja, el cual presentó las bandas de absorción más características del material híbrido.

Mediante las imágenes tomadas por Microscopia electrónica de Barrido (SEM) y el Análisis Químico Puntual se observó que la mayor adsorción de QT se presentó en la superficie del monolito de SiO_2 . Sin embargo, también se pudo confirmar la presencia de QT en el interior de los monolitos la cual puede ser atribuida al fenómeno de difusión.

El Análisis Termico-gravimetrico (TGA) mostró que en general todos los materiales híbridos presentaron una pérdida de peso pronunciada hasta los 250°C que es atribuida a pérdida de vapor de agua, ácido acético y quitosano. Además mostró que a temperaturas entre 250 y 400°C existe presencia de QT, y la pérdida de peso en esta zona es lenta ya que existe una depolimerización parcial del QT.

Las condiciones del proceso empleadas para llevar a cabo la reacción de síntesis para la obtención del material de SiO_2 , en forma de monolitos, así como el proceso de adsorción del biopolímero (QT), se puede concluir que es segura, estable, viable y muy favorable para una aplicación futura como soportes para la inmovilización de enzimas.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Austin P.R., Brine C.J., Castle J. E. Zikakis J.P. 1981.** “Chitin: new facets of research”, *Science*. 212,719.
2. **Balassa L. Prudden J. 1984.** “Applications of chitin an chitosan in wound healing acceleration. Proc. Of he Int. Conf. On Chitin/chitosan”, Muzzarelli and Pariser, Italy. 296-305.
3. **Berezin I.V., Klibanov, A.M.; Martinek., 1975.** “K.Kinetic-thermodynamic aspects of catalysis by immobilized enzymes”, págs. 17-47.
4. **Brandrup J. and Immergut, E.H. 1989.** “Polymer handbook”, 3rd ed., John Wiley & Sons, New York.
5. **Callegaro L., Denti, E., 1983.** “Applications of bioreactors in medicine”, págs. 107-110.
6. **Cervantes Chapa M. I., 1999.** “Recuperación de quitina y pigmentos de desechos de camarón, tesis maestría U.A.Q”, México.
7. **Chibata I., Tosa, T. 1980.** “Immobilized microbial cells and their applications”, *Trends Biochem. Sci.*
8. **Cho Y., Koon No. H., Meyers S.P. 1998.** “Physicochemical characteristics and functional properties of various commercial chitin and chitosan products”, *J. Agric. Food ChemIn.*, 46, 3839-3843.
9. **Dieder Moelans, Pegie Cool, Jan Baeyens. 2005.** “Using mesoporous silica materials to immobilize biocatalysis-enzymes”, 307-311.
10. **Domard A., Domard M. 2001.** “Chitosan. Structure-properties relationship and biomedical applications”, *Polymeric Biomaterials*, Marcel Dekker., 187-212.
11. **Donal R. Askeland. 2001.** “Ciencia e Ingeniería de los materiales”, 3 ed. 449-450.
12. **Dutkiewicz J. and M. 1992.** “Tuora, in *Advances in Chitin and Chitosan*”, Elsevier, New York, pag. 496.
13. **Erhardt T. 1980.** “Tecnología Básica Textil”, ed. Trillas.
14. **Fradet G., S. Brister D.S. Mulder., Lough J., Averbach B.L. 1986.** “Chitin in Nature and Technology”, New York. 443.
15. **Fwo-Long, M., Shin-Shing, S., Chin-Ta C.J., Jui-Yih L. 2002.** “Adsorption of ondometacin onto chemically modified chitosan beands”. *Polymer*. 43, 757-765.

16. **Giovannini P. 1994.** “Monitorraggio del cromo nei bagni di concia con sensore a chitosano”, Tesis de grado. Universidad la Sapienza, Dipartimento di chimica. Toma Italia.
17. **Goldstein L. 1976.** “Kinetic behaviour of immobilized enzyme systems”. págs. 397-443.
18. **Gómez-Guzmán O., Martínez-Flores J.O., Yáñez-Limón J.M. 2005.** “Estudio del efecto de memoria óptica presente en monolitos de SiO₂ obtenidos mediante el proceso Sol-Gel, dopados con iones metálicos”. Investigación y Desarrollo Tecnológico.
19. **González J., Pérez F., Ruiz F., L y Martínez R.** “Vidrios SiO₂ nanocompuestos preparados por sol-gel”, Sociedad Mexicana de Ciencia de Superficies y Vacío., 11, 1-16.
20. **Gottardi, V. M. Guglielmi., A. Bertoluzza., C. Fagnano and M.A. Morelli., J. 1984.** Non-Cryst. Solids.
21. **Guenet J.M. 1992.** “Themoreversible gelation of polymers an biopolymers”, Academic Press, New York.
22. **Gupta K. C., Ravi Kumar M.N. 2000.** “An Overview on Chitin and Chitosan Applications with an emphasis on controlled drug release formulations”, Journal of Macromolecular Science, Polymer reviews. 40, 274-283.
23. **Graves J.L., Wilson C.G. 1993.** “Treatment of diseases of eye with mucoadhesive delivery system”. *Adv. Drug Del Rev.* 11, 349-383.
24. **Hadwinger L.A. 1994.** “Chitosan a crop growth regulador”. Proceedings f the Asia Pacific chitin and Chitosan Sympsium.
25. **Hart Craine Hart, 1995.** “Química orgánica”, novena ed. Mc Graw Hill,. pag. 406.
26. **Hiroshi S. Itoyama K., Morimoto K., Takagishi, T., 1998.** “Spacer effects on enzymatic activity of bromelain immobilized onto porous chitosan beads”. *Eur. Polym.* 34, 7, 917.
27. **Hobart H. Willard. 1967.** “Métodos instrumentales de análisis”, 1 ed. 108-109.
28. **Iler R.K, 1979.** “The Chemistry of silica”. Wiley. New York.
29. **Karslen, J., 1991.** “Oyving Skaugrud. Excipient properties of chitosan. Manufacturing Chemist Gale Group”, 62, 18,2.

30. **Kailash C. Gupta and Majeti N.V. Ravi Kumar. 2000.** “An overview on chitin and chitosan applications with an emphasis on controlled drug release formulations”. págs. 273-283.
31. **Klein L.C., 1985.** “Sol-Gel Processing of Silicates”, *Ann Rev. Mater. Sci.*15, págs. 227-248.
32. **Konovalova I., Stepanova N., Vasilevskii P. y Bereza I., Russian J. 2001.** “Applications chemicals”.
33. **Lee K. Y., Ha WS., Park WH 1995.** Blood compatibility and biodegradability of partially N-acylated chitosan derivatives. *Biomaterials*, 16, 1211-1216
34. **Lee K.B., Kann, Kwon I.C., Kim YH., Choi K., Jeong SY. 1997.** “Controlled Released Bioact”. *Bioact. Mater.* 571.
35. **Lehninger A.L. 1988.** “Principios de Bioquímica”, Ed. Omega.
36. **Leigh G.J., Blackwell. 1990.** “Nomenclature of inorganic chemistry”.
37. **Mackenzie J.D.; Li C-Y; Tseng J. Y.; Morita K.; Lechner C.; Hu Y. 1992.** “Sol-gel optics II”, *Proc. SPIE* 1758, 410.
38. **Martinek K., Mozhaev, V.V. 1987.** “Immobilization of enzymes: an approach to fundamental studies in biochemistry”. 179-249
39. **Martínez J.R., Ruiz F., González J., Pérez J.F. 2002.** “Vidrios SiO₂ nanocompuestos preparados por sol-gel”. *Sociedad Mexicana de ciencia de superficies y de Vacío.* 11, 1-16.
40. **Martínez R. 1999.** “Formación y caracterización de materiales vítreos preparados por la técnica sol-gel”, *Rev. Mex. De Física.* 472-479.
41. **Mellor, R.B., Ronnenberg, J., Campbell, W.M., Diekmann, S. 1992.** “Reduction of nitrate in water by immobilized enzymes”, *Nature.*
42. **Mi F., Shyu S., Kuan C., Lee S., Lu K. y Jang S., J. 1999.** “*Appl. Polym. Sci.*, 74(7), 1868-1879.
43. **Muzzarelli R.A.A. 1982.** “Tanfani F. N-(O-carboxybenzyl) chitosan N-carboxymethyl chitosan and dithiocarbamate chitosan: new chelating derivatives of chitosan”, *Pure Appl. Chem.* 54, 2141-2150.
44. **Muzarelli R.A.A. Lough C., Emanuelli M.J. 1987.** “The Molecular weight of chitosans studied by laser light-scattering”, *Carbohydrate Researc.* 164, 433.

45. **Muzarelli R.A.A., Biagini G., Bellardini M., Simonelli L., Castaldini C., Fratto G. 1993.** “Osteoconduction exerted by methylpyrrolidinone chitosan used in dental surgery”, *Biomaterials*.
46. **Odian, George 1991.** “Principles of polymerization”, 3rd. ed. John Wiley & Sons. New York.
47. **Orcel G. J. Phalippou, and L.L. Hench, J. Non Cryst. 1986.** *Solids*.
48. **Parada Luis, G., Crespín G. D., Miranda R. e Issa Katime. 2004.** “Caracterización de quitosano por viscosimetría capilar y valoración potenciométrica”, Vol. 5(1).
49. **Pennisi E. 1993.** “Chitin craze: some scientists remain positively charged about chitin”. *Science News*. Gale Group.
50. **Reyes Melo Martín, Hinojosa Rivera, Moisés. 2000.** “Estructura de los sólidos amorfos”.
51. **Rinaudo M., Pavlov G., Desbrieres J. 1999.** “Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan”. *Polymer*. 40, 7029-7032.
52. **Samuels R.J., 1981.** “Solid state characterization of the structure of chitosan films”. *Polym Sci, Polym Phys*. Pag. 1081.
53. **Sánchez, C. and Ribot, F. 1994.** “Design of hybrid organic-inorganic materials synthesis via sol-gel chemistry”, *New J. Chem*. Vol. 18. 1007-1047.
54. **Seymour, Raymond B. and Carraher, Charles E. 1990.** “Giant molecules”, John Wiley and Sons, inc. New York.
55. **Seymour Raymond B, y Charles E. Carraher, Jr 1971.** “Introducción a la Química de polímeros”, ed. Reverte.
56. **Simpson, B.K., Gagne N. Simpson M.V. 1994.** “Bioprocessing of chitin and chitosans in Fisheries Processing”, *Biotechnological Applications*. Chapman and Hall London UK. 155-173.
57. **Singh D.K., Ray A.L 1999.** “Controlled release of glucose through modified chitosan membranes. *J. of Membrane. Sci.* 155, 107-112.
58. **Socrates G., 1994.** “Infrared Characteristic Group Frequencies”, Second Ed., 96.
59. **Teicher, S. J. G.A. Nicolaon. M.A. Vicarini, and G.E.E. Gardes. 1976.** *Adv. Coll. Int.* 245.

60. **Skaugrud, Oyvind. 1991.** "Chitosan new biopolymer for cosmetics & drugs". Drug & Cosmetics industry. 148, 5, 24.
61. **Thanou M., Kotzé A., Scharinghausen T., Luessen H., De Boer A., Verchoef J., Junginger H. J. 2000.** Control Release 15-25.
62. **Ulrich, Henri. 1982.** "Introduction to industrial Polymers", Hanser, Munich.
63. **Ureta Ernesto. 1989.** "Polímeros, estructura, propiedades y aplicaciones", Primera edición.
64. **Vachoud L., Zydowicz N., Domard A. 1997.** "Formation and characterization of a physical chitin gel carbohydr", Res. 302. 169.
65. **Wan L.S.C., Lim L.Y., Soh B.L. 1994.** "Drug release from chitosan vedas". S.T.P. Pharma. Sci. 4, 195-198.
66. **Wei W., Lihua W., Q. 1994.** "Dilute solution behavior of chitosan in different acid solvents.Chinese", Journal of Polymer Science. 12.
67. **Wingard, L.B., 1972.** "Enzyme Engineering", Interscience Publishers, New York.
68. **Yoldas B.E. 1975.** Bull. Am. Ceram. Soc. 54. 286.
69. **Zhang, R. Y., Ma P.X. 1999.** "Poly (α -hydroxyl acids)/hydroxyapatite porous composites for bone-tissue engineering. Preparation and morphology. J. Biomed. Mater. Res. 44, 446.