INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ

RESIDENCIA PROFESIONAL

INFORME TÉCNICO DE RESIDENCIA PROFESIONAL

"PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE BIOMATERIALES PARA MATERIALES COMPUESTOS"

INGENIERÍA QUÍMICA

PRESENTA:

JESÚS EUARDO SOL GARCÍA

ASESOR INTERNO: DR. SAMUEL ENCISO SÁENZ

ASESOR EXTERNO: DR. JOSÉ ANTONIO AZAMAR BARRIOS

PERÍODO DE REALIZACIÓN:

AGOSTO-DICIEMBRE 2014

MÉRIDA, YUCATÁN. DICIEMBRE DEL 2014

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Unidad Mérida, Departamento de Física Aplicada, Laboratorio de Química de Materiales.

Agradezco al mi asesor externo, al Dr. José Antonio Azamar Barrios por haberme brindado la oportunidad de trabajar con él en su laboratorio y por su apoyo que me ayudó a realizar el proyecto.

También agradecer al Dr. José Fernando May Crespo por su apoyo en los análisis de las películas de quitosano en el equipo DMA.

Otro agradecimiento a mi asesor interno, el Dr. Samuel Enciso Sáenz quién me apoyó resolviendo mis dudas y por haberme apoyado a elaborar el reporte final de residencia.

ÍNDICE

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

1.1 Introducción……5
1.2 Justificación……7
1.3 Objetivo General……8
1.4 Objetivos Específicos……8

CAPÍTULO 2. CARACTERIZACIÓN Y PROBLEMÁTICA DEL ÁREA

2.1 Caracterización del área de participación……9
2.2 Problema a resolver……10
2.3 Alcances y limitaciones……..……10

CAPÍTULO 3. FUNDAMENTO TEÓRICO

3.1 ÁRBOL DE NEEM……..……11
3.1.1 Uso del Neem en la medicina tradicional……12
3.1.2 Aceites esenciales y extractos de plantas……13
3.1.3 Métodos de extracción……13
3.2 QUITINA Y QUITOSANO……16
3.2.1 Quitina……17
3.2.1.1 Fuentes de obtención de quitina……17
3.2.1.2 Asociación quitina- proteína……18
3.2.1.3 Complejo quitina-carbonato de calcio……..…19
3.2.1.4 Obtención de quitina……..19
3.2.2 Quitosano…….…...20
3.2.2.1 Principales aplicaciones…….…...20
3.2.2.2 Obtención de quitosano…….…....23
3.2.2.3 Solubilidad del quitosano……..23
3.3 ESPECTROSCOPÍA DE INFRARROJO (FTIR)……....24
3.4 ANÁLISIS DINÁMICO MECÁNICO (DMA)…….…25

CAPÍTULO 4. PROCEDIMIENTO Y DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS.

4.1 Investigación y revisión bibliográfica…..……..……...27
4.2 Molienda y tamizado de hojas secas de neem…….…….…27
4.3 Extracción de aceites de plantas……..……28
4.4 Análisis de extractos por FTIR…….…31
4.5 Obtención de quitina y quitosano……..……...31
4.6 Elaboración de películas de quitosano…….……..34
4.6.1 Método de Vaciado……34
4.6.2 Método de Spray pirolisis……..35
4.7 Análisis de películas por FTIR……36
4.8 Análisis de propiedades mecánicas por DMA..……...….37

CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Análisis por Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier……38
5.2 Análisis Dinámico Mecánico……41
5.3 Discusión de resultados……43

CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.……....46

BIBLIOGRAFÍA…….…47

1.1 INTRODUCCIÓN

En los últimos años la necesidad del hombre por mejorar la calidad de vida de las personas ha llevado a que se busquen nuevas alternativas para curar ciertas afecciones en los humanos, es por ese motivo, que el estudio de las propiedades curativas de las plantas ha ido en aumento; estas sustancias se pueden encontrar en los tallos, hojas, frutos, semillas y flores de muchas especies de plantas. Al obtener estas sustancias por medio de extracciones se pueden incorporar a otros materiales como el quitosano que de igual forma favorece a la salud humana.

Algunas plantas, como el neem se han utilizado para la elaboración de remedios caseros contra diversos padecimientos (Chopra, 1956), el aceite y extracto de corteza y hojas de este árbol se emplean como terapéuticos para tales afecciones (Thakur*et al.,* 1981). El aceite de neem también presenta varios usos en infecciones de la piel (Chopra, 1956).

Los polímeros juegan un papel importante en la naturaleza y en la industria, dentro de los polímeros naturales se encuentran aquellos que son portadores y manipuladores de la información biológica o elementos estructurales de sistemas vivos.

La quitina es uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza, es el componente estructural del exoesqueleto de: insectos, crustáceos, artrópodos etc. y de la pared celular de algunos hongos. Este biomaterial y su principal derivado, el quitosano, poseen propiedades antimicrobianas absorbentes, emulsificantes, filmogénicas, etc., y son empleados con éxito en campos tan diversos como el farmacéutico, médico, la industria alimentaria, procesadora de efluentes, agricultura, entre otros. Hoy en día se sabe que la quitina y el quitosano han sido usados desde la antigüedad para acelerar el proceso de curación de heridas. Por ejemplo, los antepasados de los coreanos usaban la quitina como un abrasivo (obteniéndola a partir de las plumas del calamar) y los antepasados de los mexicanos aplicaban quitosano para la aceleración de la cicatrización de heridas (obteniéndolo de las paredes celulares de algunos hongos).

Las industrias americana y japonesa han investigado en las últimas décadas, el uso de quitosano en sistemas de liberación controlada de fármacos. Este

biopolímero catiónico con grupos funcionales potencialmente reactivos tiene posibilidades especiales para utilizarse en esta tecnología. La biocompatibilidad y la biodegradabilidad del quitosano han sido claramente establecidas y son cualidades sumamente importantes para esos objetivos. Los quitosanos se pueden usar en sistemas mirogranulados asociados a otras matrices de liberación, en geles de liberación controlada o como vehículos de liberación en granulación húmeda.

1.2 JUSTIFICACIÓN

El procesamiento de los desechos de la industria camaronera en México genera considerables problemas de contaminación, principalmente por su insolubilidad en el agua y su resistencia a la biodegradación; por tal motivo es importante la búsqueda para la utilización de estos desechos y de esta forma obtener un valor agregado. Estos residuos pueden ser procesados para obtener quitina, que posteriormente puede ser convertida en quitosano, el cual tiene numerosas aplicaciones industriales.

Una aplicación que puede llegar a ser de las más importantes, es la utilización del quitosano como un sistema de liberación controlada de fármacos. Al incorporar extractos obtenidos de plantas con propiedades medicinales a películas o membranas de quitosano, se está contribuyendo al campo de la medicina para emplear nuevas alternativas contra algunas afecciones hacia el organismo humano.

El alcance de este proyecto puede lograr diferentes impactos, estos son el impacto económico, social y el más importante el ecológico. Habrá un impacto económico en cuanto a darle un valor agregado a un producto de desecho, precisamente por ser desecho el costo de la materia prima es sumamente bajo; si la materia prima es barata, el producto final que se obtenga de igual forma lo será. De forma implícita está el impacto social, el costo del producto será relativamente económico; además, el beneficio que se busca es para ayudar a las personas.

Finalmente, gracias a este proceso de utilizar desechos se reducirá considerablemente la contaminación por residuos de camarón, y, el producto final por ser obtenido prácticamente de la naturaleza, será amigable con el medio ambiente.

1.3 OBJETIVO GENERAL

Obtener extractos de hojas de neem y películas de quitosano.

1.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar tres métodos diferentes de extracción de aceite de hojas de neem (equipo Soxhlet, parrilla de calentamiento y ultrasonido) y evaluar cada uno de ellos.
- Incorporar el extracto obtenido a una película de quitosano.
- Analizar en el equipo de FTIR los materiales obtenidos.
- Realizar Análisis Dinámico Mecánico de cada una de las películas obtenidas.

CAPÍTULO 2. CARACTERIZACIÓN Y PROBLEMÁTICA DEL ÁREA

2.1 Caracterización del área de participación.

Nombre: Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Mérida (CINVESTAV, Unidad Mérida).

CINVESTAV, Unidad Mérida Km. 6 Antigua carretera a Progreso. Apdo. Postal 73, Cordemex, 97310, Mérida, Yucatán, México.

El proyecto se desarrolló en el laboratorio de Química de Materiales perteneciente al departamento de Física Aplicada de este centro de investigación.

2.2 Problemas a resolver

- **Encontrar un método óptimo de extracción de aceite de hojas de neem**. Adoptar un método económico y práctico para la obtención de extractos de hojas de neem.
- **Incorporación del extracto de hojas de neem a una película de quitosano**. Encontrar las condiciones de concentración de extracto para incorporar a un gel que permita solidificar adecuadamente.
- **Comparación del método de obtención de la película de quitosano**. Determinar las condiciones adecuadas para producir las películas de quitosano, ya sea por el método de vaciado o por el de spray pirolisis.

2.3 Alcances y Limitaciones

Alcances

- De acuerdo a los diferentes métodos de extracción se determinará cuál es el más eficiente.
- Reducir los tiempos de preparación de las películas de quitosano.

Limitaciones

- Las limitaciones están en función del tiempo.
- Coincidir con la época de mayor producción de las plantas.

CAPÍTULO 3. FUNDAMENTO TEÓRICO

3.1 ÁRBOL DE NEEM

El neem pertenece a la familia Meliaceae al igual que el paraíso (Meliaazedarach), la caoba (Swieteniamacrophylla) y el cedro (Cedrelaodorata). Es nativo de India y Birmania, donde ha sido ampliamente usado en tratamientos médicos desde hace 4,500 años (NeemAssociation, 1998; Norten, 1999).

Por su importancia ha sido establecido en muchos países de ambientes semiáridos, subtropicales y tropicales secos, que es donde crece sumamente rápido. Actualmente se encuentra establecido en países africanos, Australia, Haití, República Dominicana, Islas Vírgenes, Puerto Rico, Fiji, Mauritania, Estados Unidos de América y algunos países del Centro y Sud América (Jacobson, 1990; Schmutterer, 1990; Verkerk and Wright, 1993; Norten, 1999). En México, se encuentra en los estados de Baja California, Baja California Sur, Sinaloa, Sonora, Nayarit, Colima, Campeche, San Luis Potosí, Guerrero, Quintana Roo, Yucatán, Nuevo León, Veracruz, Oaxaca, Morelos, Chiapas, Guanajuato, Tabasco, Tamaulipas y Durango (Cruz, 1998; INIFAP, 1999). El neem fue introducido a las zonas del trópico seco de México hace tres décadas y a Baja California Sur en el año de 1989 por la Asociación “Productores Orgánicos del Cabo, S. de S.S. de R. L. de C.V.” de San José del Cabo, B.C.S., la cual fue traída de Filipinas de plantas seleccionadas por sus altos contenidos del principio activo de sus semillas. Sin embargo existen evidencias científicas que estos principios activos varían de acuerdo a la altitud, latitud, condiciones del suelo y clima donde se establezcan; aunque los árboles no manifiesten diferencias externas importantes. Algunos árboles son mejores para aplicaciones médicas y otros para la protección de planta (Norten, 1999).

El compuesto principal del árbol de neem es la Azadiractina (AZA), su fórmula química es $C_{35}H_{44}O_{16}$ y su peso molecular es 720.7, tiene un sabor amargo (limonoide) y pertenece al grupo estereoquímio homogéneo de tetranortriterpenoides. (IARI, 1983). De las hojas se pueden aislar varias moléculas como un flavonoide polifenólico llamado quercitina, un β-sitosterol, el nimbosterol, nimbina y otros limonoides, como la nimocinolida e isonimocinolida.

También se han aislado un grupo de alcanos de entre 14 y 31 carbonos, aminoácidos y ácidos grasos.

3.1.1 Uso del Neem en la medicina tradicional

Desde la antigüedad, todas las partes del árbol de Neem se han utilizado para la elaboración de remedios caseros. El aceite de Neem y el extracto de corteza y hojas, se utilizan como terapéuticos para padecimientos como la lepra, helmintiasis intestinal, desordenes respiratorios, constipación, así como del mejoramiento de la salud en general (Basu*et al.,* 1931). La corteza de neem también se utiliza para aliviar inflamaciones e irritaciones cutáneas y curar heridas, hemorroides y encías sangrantes. Las hojas, por su parte, se emplean en la inducción del parto y el tratamiento de los trastornos posteriores, para la higiene íntima (por sus propiedades antiinflamatorias y antisépticas), para inducir la lactación (propiedad que también se utiliza a veces en la industria láctica), para combatir distintas afecciones cutáneas y para tratar la diabetes.

El aceite, que hasta hace unas décadas se empleaba como un fortaleciente infantil en el sur de la India, se considera todavía como un remedio óptimo para los eccemas, abscesos, lesiones lepróticas, para la psoriasis y la caspa, para matar piojos y para aliviar comezones. Utilizado en masajes, se considera asimismo ideal para combatir el reumatismo y los dolores articulares. El aceite de Neem también presenta varios usos en infecciones de la piel (Chopra, 1956). La corteza, las hojas, la raíz, las flores y el fruto, al mezclarse curan la morbidad sanguínea, afecciones biliares, prurito, ulceras en piel y ardor (Mitra *et al.,* 1963). Los frutos, también con poder vermífugo, sirven para tratar los trastornos urinarios, purificar la sangre y curar los granos sangrantes. Entre otras propiedades conferidas al árbol de Neem, se encuentra su capacidad como antiséptico, cicatrizante y contra enfermedades de la piel (Kirtikar&Basu, 1931; Biswas*et al.*, 2002). También se ha revelado que la parte soluble en agua del extracto alcohólico de las hojas, posee importantes propiedades antiinflamatorias, antiserotonina, anticonceptivas y actividad hepatoprotectora (Chattopadhyay*et al.*, 1986, 1987a, 1992, 1993).

La savia, por su parte, se emplea para curar diversas dermatosis incluidas hasta hace poco las tremendas úlceras de la lepra. La goma, similar a la arábiga,

se utiliza como emulgente para el dolor de garganta y las flores como vermífugos, para aliviar la tos y varias dolencias oculares, entre ellas las cataratas.

3.1.2 Aceites esenciales y extractos de plantas

Los aceites esenciales y extractos de plantas se han utilizado desde hace mucho tiempo para obtener aromas y sabores. En años recientes se han estudiado los extractos y aceites esenciales de condimentos y especias desde un punto de vista funcional. Son sustancias aromáticas de base lipídica encontrados prácticamente en todas las plantas; son muy numerosos y están ampliamente distribuidos en las distintas partes de la planta: raíces, tallos, hojas, flores, semillas y frutos.

Los métodos de obtención de los aceites esenciales y extractos determinan el uso de los mismos. El tipo de disolvente empleado puede contaminarlos o limitar su uso, dependiendo de las técnicas utilizadas para su eliminación.

Las propiedades funcionales de los extractos varían con proporción de los compuestos presentes. Para especies diferentes se obtienen respuestas diferentes en su actividad antimicrobiana de acuerdo a las condiciones en las que se procesan (Thongson*et al.,* 2004). Diversas investigaciones demuestran que la composición de los aceites esenciales y extractos puede variar de acuerdo al método de extracción utilizado. Las variaciones radican en diferencias en la proporción de los compuestos e incluso en diferencias en el número de los compuestos (Sefidkon*et al.,* 2006). Es importante identificar los efectos de diversos métodos de extracción sobre las propiedades y composición de los aceites y otros extractos obtenidos.

3.1.3 Métodos de extracción

Destilación por arrastre de vapor. En la destilación por arrastre de vapor de agua se lleva a cabo la vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla formada por éste y otros no volátiles. Esto se logra por medio de la inyección de vapor de agua directamente en el seno de la mezcla, denominándose este “vapor de arrastre”, pero en realidad su función no es la de arrastrar el componente volátil, sino condensarse formando otra fase inmiscible que cederá su calor latente

a la mezcla a destilar para lograr su evaporación. En este caso se tendrá la presencia de dos fases inmiscibles a lo largo de la destilación (orgánica y acuosa), por lo tanto, cada líquido se comportará como si el otro no estuviera presente. Es decir, cada uno de ellos ejercerá su propia presión de vapor y corresponderá a la del líquido puro a una temperatura de referencia (Wankat, 1988). La condición más importante para que este tipo de destilación pueda ser aplicado es que tanto el componente volátil como una impureza sean insolubles en agua, ya que el producto destilado formará dos fases al condensarse, lo cual permitirá la separación y del agua fácilmente.

En la destilación por arrastre es posible utilizar un gas inerte para el arrastre (Fair, 1987). Sin embargo, el empleo de vapores o gases diferentes al agua implica problemas adicionales en la condensación y recuperación del destilado o gas.

La destilación por arrastre de vapor es un método sencillo y de bajo costo, pero su inconveniente es que se requiere largos períodos de tiempo y tiene rendimientos bajos en comparación con otros métodos (Sefidkon*et al*., 2006; Guan*et al*., 2007).

Extracción con disolventes. En el método de extracción con disolventes volátiles, la muestra seca y molida se pone en contacto con disolventes orgánicos tales como alcohol y cloroformo, entre otros. Estos disolventes solubilizan la esencia pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una oleorresina o un extracto impuro. Se utiliza a escala de laboratorio porque a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los disolventes, porque se obtienen esencias contaminadas con otras sustancias, y además por el riesgo de explosión e incendio característicos de muchos disolventes orgánicos volátiles (Martínez, 2003).

Los disolventes derivados del petróleo, como éter dietílico, ciclohexano, hexano, acetato de metilo, propanol, etc., son tóxicos al inhalarlos y al contacto con la piel, y dependiendo del tiempo de exposición será la gravedad de los efectos.

En este tipo de procedimientos se obtienen masas viscosas, según la materia prima, que contienen el aceite esencial, grandes cantidades de ceras, resinas y pigmentos, que se eliminan realizando extracciones con alcohol, enfriando a -13°C, filtrando y evaporando el alcohol (Ortuño, 2006). Los métodos usados a nivel laboratorio son extracción por reflujo y mediante equipo Soxhlet. Otro tipo de extracción por disolventes, mayormente usada a nivel laboratorio, e la maceración o extracción alcohólica, en la cual la materia orgánica reposa en soluciones de alcohol por períodos de tiempo definidos. Los aceites sonrecuperados evaporando el alcohol, generalmente en rotavapores (Chua*et al*., 2008).

Extracción por fluidos supercríticos. La extracción por fluidos supercríticos es una operación unitaria que explota el poder disolvente de fluidos supercríticos en condiciones encima de su temperatura y presión críticas. Es posible obtener extractos libres de disolvente usando fluidos supercríticos y la extracción es más rápida que con la utilización de disolventes orgánicos convencionales. Estas ventajas son debidas a la alta volatilidad de los fluidos supercríticos (gases en condiciones ambientales normales) y a las propiedades de transporte mejoradas (alta difusividad y baja viscosidad). Usando dióxido de carbono, en particular, el tratamiento es a temperatura moderada y es posible lograr una alta selectividad de micro-componentesvaliosos en productos naturales. La selectividad del CO_2 también es apropiada para la extracción de aceites esenciales, pigmentos, carotenoides antioxidantes, antimicrobianos y sustancias relacionadas , que son usadas como ingredientes para alimentos, medicinas y productos de perfumería y que son obtenidas de especias, hierbas y otros materiales biológicos (Del Valle y Agulera, 1999).

Extracción por microondas. El uso de microondas es otra alternativa para la extracción de aceites esenciales. Ésta técnica puede utilizarse asistiendo un método convencional como la hidro-destilación o adaptando un equipo para establecerlo como un método independiente, como la extracción por microondas

sin disolvente (Kimbaris*et al.,* 2006;Bousbia*et al.,* 2009). La extracción por microondas sin disolvente, SFME (solvent free microwaveextraction), combina el calentamiento por microondas y la destilación seca. No se necesita agregar ningún disolvente o agua si se emplea material fresco. En caso de que el material esté seco, éste se rehidrata remojándolo en agua y drenando el exceso antes de la extracción.

La extracción por microondas ofrece beneficios como una reducción considerable del tiempo y del consumo de energía (Kimbaris*et al.,* 2006). Este método puede realizarse a gran escala con reactores de microondas, pero se requieren altos niveles de seguridad (Bousbia*et al.,* 2009).

Extracción con ultrasonido de baja frecuencia. El ultrasonido se aplica como una alternativa de extracción o para asistir en procesos de extracción de componentes volátiles de plantas, incluyendo aceites esenciales. La proporción en la composición de los extractos y el rendimiento de éstos depende de la temperatura a la que se lleve a cabo el proceso y del disolvente, o la mezcla de disolventes que se utilicen (Proestos y Komaitis, 2006).

En general, la aplicación de ultrasonido de baja frecuencia o alta intensidad incrementa la eficiencia de la extracción y reduce el tiempo de ésta (Thongson*et al.,* 2004; Proestos y Komaitis, 2006). También disminuye el riesgo de degradación térmica, cuando la extracción se realiza a temperaturas de 25°C (Kimbaris*et al.,* 2006). La desventaja de la implementación de ultrasonido es que involucra el uso de disolventes orgánicos.

3.2 QUITINA Y QUITOSANO

Entre las moléculas poliméricas más abundantes en la naturaleza se hallan la celulosa, que se encuentra en la mayoría de los vegetales; y la quitina, que es un componente de los exoesqueletos de invertebrados y las paredes celulares de algunos hongos y algas.

3.2.1 Quitina

La quitina, poli (β-(1-4)-N-acetil-D-glucosamina) se encuentra distribuida ampliamente en la naturaleza, después de la celulosa es el polímero natural más abundante (Heller. 1959), presenta una tasa de reposición tan alta en la biósfera que duplica a la de la celulosa, por lo que constituye un importante recurso renovable.

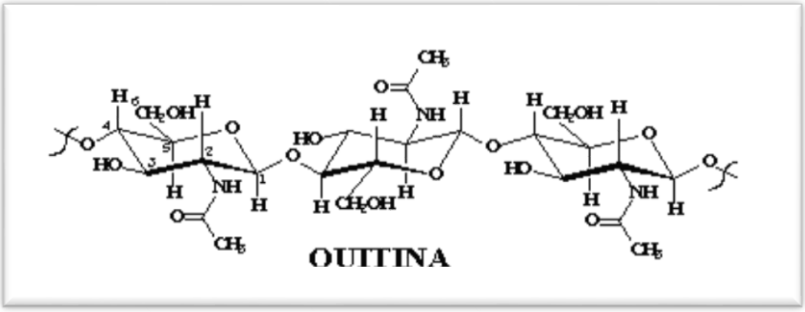


Figura 1. Estructura química de la quitina

Por ser un producto natural, no podemos esperar una composición única. Debe entenderse por esto que las diferentes moléculas del polímero presentan variabilidad entre ellas. La variabilidad abarca su longitud, el porcentaje de grupos amino-acetilos y la posición de estos a lo largo de la cadena.

3.2.1.1 Fuentes de obtención de quitina

La principal fuente de quitina son los exoesqueletos de crustáceos e insectos. Particularmente, los exoesqueletos de camarón contienen una alta concentración de quitina, de la cual es posible obtener quitosano a través de un proceso químico de N-desacetilación.

La quitina se encuentra, además, presente en algunos hongos como los ascomicetos, zigomicetos, basidiomicetos y deuteromicetos, y en algas como las diatomeas (Laréz, 2008).

En las diversas matrices, la quitina se asocia de diferentes maneras. Se encuentra unida a proteínas en los exoesqueletos de insectos y crustáceos. Está esclerotizada en las cutículas de insectos al unirse fuertemente con polihidroxifenoles. En el caso de hongo, se asocia no sólo con polisacáridos sino también con celulosa. Además de los compuestos orgánicos anteriormente

señalados, la quitina nativa viene acompañada por sales inorgánicas, de las que el carbonato de calcio es la más representativa.

3.2.1.2 Asociación quitina- proteína

La matriz de los exoesqueletos de crustáceos está formada por quitina asociada a proteínas, pigmentos y sales inorgánicas. En la siguiente figura, se muestra la microestructura de la matriz de los crustáceos; en ella se reconocen dos zonas denominadas epicutícula y endocutícula. La primera no posee quitina y está compuesta por taminos fenólicos (lipoproteínas que le dan el color característico) y material calcáreo que le imprime dureza y resistencia.

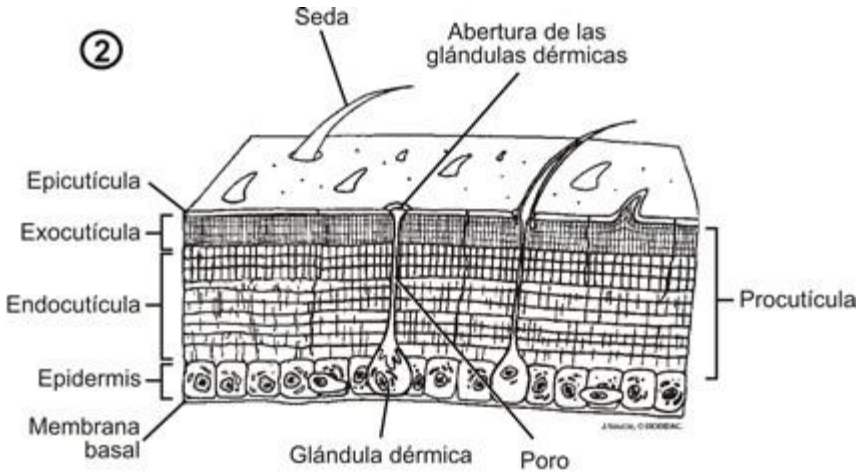


Figura 2. Microestructura de la matriz de los crustáceos.

La endocutícula presenta quitina en sus tres capas sucesivas: la capa pigmentada, con depósitos granulares de pigmentos tipo melaninas, fuertemente calcificada; la denominada capa calcificada, de color azul difuso por contener probablemente derivados de carotenoides; y la capa descalcificada constitutida por asociaciones quitina-proteína, denominada también pro-cutícula.

3.2.1.3 Complejo quitina-carbonato de calcio

La dureza de los exoesqueletos de crustáceos se debe a las sales inorgánicas asociadas al polímero quitina. El contenido de estas sales es variable; depende de la consistencia de las especies que las contienen y oscilan entre el 30% y el 55% en base seca. El carbonato de calcio representa la mayor proporción dentro de ellas. Se ha detectado, en algunos casos, entre 8% y 10% de fosfatos de calcio.

3.2.1.4 Obtención de quitina

- **Acondicionamiento de la materia prima**

  Consiste en el lavado con agua de los caparazones a procesar y separación de la masa que pueda quedar adherida a los mismos. Posteriormente se procede a secar la materia prima seguido de su molienda hasta el tamaño de partículas adecuado para la extracción, que generalmente tiene un tamaño de 1 a 3 mm.

- **Desproteinización**

  El procedimiento más comúnmente utilizado para desproteinizar consiste en tratar los caparazones de los crustáceos con una solución acuosa diluida de NaOH a temperatura más bien alta (65-100ºC), con el fin de disolver la proteína. El tiempo de tratamiento suele variar entre media hora a 72 horas. En ocasiones se prefiere realizar dos tratamientos consecutivos por tiempos cortos. Hay que tener en cuenta que tratamientos por largo tiempo o a temperaturas muy altas pueden provocar ruptura de las cadenas y la desacetilación parcial del polímero. También se han utilizado otros agentes para extraer la proteína, entre los cuales se mencionan los siguientes: Na_2CO_3, $NaHCO_3$, KOH, K_2CO_3, $Ca(OH)_2$, Na_2SO_3, $NaHSO_3$, Na_3PO_4 y Na_2S (Roberts, 1992).

  Los procesos de desproteinización usando extractos enzimáticos o enzimas aisladas y fermentaciones microbiológicas se han probado con relativo éxito, pero la alternativa del tratamiento enzimático/microbiológico,

además de consumir largo tiempo, suele dejar de 1-7% de proteína residual (Synowiecki, 2000).

- **Desmineralización**

  El principal componente inorgánico de los caparazones de los crustáceos es el $CaCO_3$, el cual se suele eliminar empleando soluciones diluidas de HCl (hasta 10%) a temperatura ambiente, aunque también se han utilizado otros ácidos (HNO_3, CHOOH, HNO_3, H_2SO_4, y CH_3COOH). La concentración del ácido y el tiempo de tratamiento dependen de la fuente, pero deben evitarse los tratamientos a temperaturas más altas, que provocan la degradación del polímero (Roberts, 1992). Un tratamiento alternativo para disminuir la degradación consiste en el empleo del agente acomplejante EDTA (ácido etilendiaminotetracético) (Austin, 1981).

3.2.2 Quitosano

El quitosano es un polisacárido lineal de residuos β-(1,4)-2-amino-2desoxi-D-glucopiranosa y 2-acetoamido-2-desoxi-D-glucopiranosa. Es el derivado parcialmente desacetilado más importante que se obtiene de la quitina (Trung, 2006).

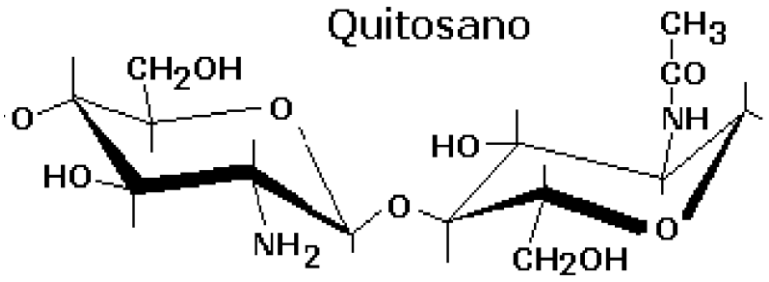


Figura 3. Estructura química del quitosano.

3.2.2.1 Principales aplicaciones

Éstas son algunas de las principales aplicaciones que tienen actualmente estos materiales en diferentes áreas:

a) **Agricultura**: son muchísimas las aplicaciones en este campo que se han venido desarrollando. Entre las más comunes tenemos:

- Recubrimiento de semillas con películas de quitosanopara su conservación durante el almacenamiento.
- Sistemas liberadores de fertilizantes.
- Agente bactericida y fungicida para la protección de plántulas (inicio de las plantaciones).

b) **Medicina**: hoy en día se sabe que la quitina y el quitosano han sido usados desde la antigüedad para acelerar el proceso de curación de heridas. Por ejemplo, los antepasados de los coreanos usaban la quitina como abrasivo (obteniéndola a partir de las plumas del calamar) y los antepasados de los mexicanos aplicaban quitosano para la aceleración de la cicatrización de heridas (obteniéndolo de las paredes celulares de algunos hongos).

En la actualidad, entre los usos médicos más sencillos de estos materiales podemos mencionar:

- Producción de suturas quirúrgicas a partir de quitina.
- Producción de gasas y vendajes tratados con quitosano.
- Cremas bactericidas para el tratamiento de quemaduras.
- Sistemas de liberación controlada de fármacos. Pueden ser usados en sistema microgranulados asociados a otras matrices de liberación, en geles de liberación controlada o como vehículos de liberación en granulación húmeda.

c) **Tratamiento de aguas**: es una de las áreas más importantes debido a que el quitosano y la quitina son sustancias “ambientalmente amigables”. Entre los principales usos que se hacen en la actualidad de estos biomateriales, y algunos de sus derivados, en este campo tenemos:

- Coagulante primario para aguas residuales de alta turbidez y alta alcalinidad(Gidas, 1999).

- Floculante para la remoción de partículas coloidales sólidas y aceites de pescado.
- Captura de metales pesados y pesticidas en soluciones acuosas. Algunos copolímeros de injerto del quitosano muestran alta efectividad para remover metales pesados, especialmente los derivados de ácidos alquenodióicos(Kin, 1997).

d) **Cosméticos**: es amplia la aplicación de ambos biopolímeros en este campo. Se mencionan tres de las más conocidas:

- Fabricación de cápsulas para adelgazar, denominadas “atrapagrasas”. Quizás sea la aplicación más extensamente aprovechada del quitosano.
- Aditivo bactericida en jabones, champús, cremas de afeitar, cremas para la piel, pasta dental, etc.
- Agente hidratante para la piel, debido a que sus geles pueden suministrar agua y evitar la resequedad. Además, el quitosano forma una película que ayuda a dosificar otros principios activos.

e) **Biosensores**: son numerosísimas las aplicaciones del quitosano en este campo, especialmente como soporte para la inmovilización de enzimas sensibles a un sustrato específico. Algunos ejemplos son:

- Sensor para glucosa en sangre humana, basado en la inmovilización de la enzima glucosa oxidasa sobre quitosano, usando adicionalmente Azul de Prusia (Zhu, 2002).
- Sensor para la detección de fenoles en aguas de desecho en plantas industriales, basado en la inmovilización de la enzima tirosinasa (Wang, 2002).
- Sensores basados en la inmovilización de nanopartículas espacialmente ordenadas (Wu, 2005).

3.2.2.2 Obtención de quitosano

Cuando la quitina se somete a la acción de un medio alcalino muy concentrado, y a temperaturas superiores a 60°C, se produce la reacción de desacetilación. Esta reacción se basa en la hidrólisis de los grupos acetamida para generar un polímero desacetilado. Dicha reacción se realiza bajo condiciones alcalinas muy severas, debido a la combinación de tres factores:

1. La baja reactividad debida a la configuración *trans* de los sustituyentes acetamida con respecto al grupo OH-3 del anillo piranósico de la unidad monomérica.
2. La presencia de enlaces hidrógeno entre grupos carbonilo y amida de cadenas adyacentes.
3. El denso empaquetamiento de las cadenas del enrejado de la quitina, que previene el acceso del álcali a los sitios reactivos.

Normalmente son necesarios tratamientos térmicos de la quitina en soluciones acuosas muy concentradas con el objetivo de desacetilar parcialmente el polímero y obtener el quitosano. Generalmente este proceso se realiza con una solución acuosa de NaOH entre el 40%y 50% en un intervalo de 110°C a 115°C durante unas cuantas horas (Crini, 2005). La desacetilación completa difícilmente se alcanza y normalmente no es necesaria, ya que la solubilidad en soluciones de ácido diluido se logra a partir de un grado de desacetilación de aproximadamente 60%. El criterio utilizado para distinguir entre quitina y quitosano es precisamente la solubilidad de este último en soluciones de ácido diluido. El quitosano, por lo tanto, no es una entidad química única y definida, sino que designa a una familia de polisacáridos que varían entre sí en su composición y tamaño molecular. Esta variabilidad se asocia especialmente a las condiciones del proceso de obtención.

3.2.2.3 Solubilidad del quitosano

El quitosano al ser una base, forma sales con ácidos y origina polielectrolitos cuyas solubilidades son función de la naturaleza del anión involucrado, del grado

de desacetilación, del peso molecular del polímero y de la temperatura. Los quitosanos son solubles en diferentes medios.

El quitosano es soluble en ácidos inorgánicos tales como el clorhídrico, el bromhídrico, el iodhídrico, el nítrico y el perclórico diluido. Sin embargo, cuando se incrementan las concentraciones, se observa precipitación del quitosano (Damour, 2001). Es insoluble en ácido sulfúrico diluido y mejora su solubilidad al aumentar la concentración del ácido aunque, el proceso va acompañado de sulfatación y degradación del tamaño de la cadena.

En ácidos orgánicos el quitosano forma sales solubles. Las sales de ácidos monocarbóxílicos son solubles desde el fórmico hasta el hexanoico y los dicarboxílicos desde el propanodioico hasta el nonadioico. El quitosano es insoluble en la gran mayoría de los solventes orgánicos y en el agua.

3.3 ESPECTROSCOPÍA DE INFRARROJO (FTIR)

Casi todos los compuestos que tienen enlaces covalentes, ya sean orgánicos o inorgánicos, absorben varias frecuencias de radiación electromagnética en la región de infrarrojo del espectro electromagnético. Esta región contiene longitudes de onda asociadas a la luz visible, entre 400 y 800 nm. Para propósitos químicos, es de interés la proporción vibracional del infrarrojo, lo que incluye longitudes de onda entre 2.5 µm y 25 µm.

Como en otros tipos de absorción de energía, las moléculas son excitadas a un estado de energía más alto cuando absorben radiación infrarroja. La absorción de radiación infrarroja es, un proceso cuantizado. Una molécula absorbe sólo frecuencias seleccionadas de energía. La absorción de la radiación infrarroja corresponde a cambios de energía del orden de 8 a 40 KJ. La radiación en este intervalo de energía corresponde a las frecuencias vibracionales de estiramiento y flexión de los enlaces en la mayoría de las moléculas covalentes. En el proceso de absorción, aquellas frecuencias de la radiación infrarroja que coinciden con la frecuencia de vibración natural de la molécula en cuestión son absorbidas, y absorben la energía que sirve para aumentar la amplitud de los movimientos vibracionales de los enlaces en la molécula.

La espectroscopia de reflexión en el infrarrojo ha encontrado varias aplicaciones, particularmente en el caso de muestras sólidas difíciles de manipular, como películas de polímeros y fibras, alimentos, gomas, productos agrícolas y muchos otros. Los espectros de reflexión e el infrarrojo medio, aunque no son idénticos a los correspondientes espectros de absorción, en general, son de apariencia similar y proporcionan la misma información que sus equivalentes de absorción. Los espectros de reflectancia se pueden utilizar tanto para el análisis cualitativo como el cuantitativo.

La reflexión de la radiación es de cuatro tipos: reflexión especular, reflexión difusa, reflexión interna y reflexión total atenuada La espectrometría de reflectancia difusa en el infrarrojo con transformada de Fourier es una forma eficaz de obtener espectros en el infrarrojo directamente sobre muestras pulverizadas con un mínimo de preparación de la misma (Skoog, 2001).

3.4 ANÁLISIS DINÁMICO MECÁNICO (DMA)

Análisis mecánico dinámico es una técnica usada para estudiar y caracterizar los materiales. Es muy útil para el estudio del comportamiento viscoelástico de los polímeros. Una tensión sinusoidal se aplica y la tensión en el material se mide, lo que permite a uno determinar el módulo complejo. La temperatura de la muestra o la frecuencia de la tensión se varían a menudo, lo que lleva a las variaciones en el módulo complejo; este enfoque puede ser utilizado para localizar la temperatura de transición vítrea del material, así como para identificar las transiciones correspondientes a otros movimientos moleculares.

Polímeros formados por cadenas moleculares largas tienen propiedades viscoelásticas únicas, que combinan las características de los sólidos elásticos y fluidos newtonianos. La teoría clásica de elasticidad describe las propiedades mecánicas de los sólidos elásticos, donde la tensión es proporcional a la deformación en pequeñas deformaciones. Esta respuesta de estrés es independiente de la velocidad de deformación.

La propiedad viscoelástica de un polímero se estudia por análisis mecánico dinámico en el que se aplica una fuerza sinusoidal a un material y el

desplazamiento resultante se mide. Para un sólido perfectamente elástica, la cepa resultante y el estrés serán perfectamente en fase. Para un fluido puramente viscoso, habrá un retardo de fase de 90 grados de la cepa con respecto a la tensión. Polímeros viscoelásticos tienen las características de entre las que se producirá algún desfase en las pruebas DMA.

CAPÍTULO 4. PROCEDIMIENTO Y DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS

Durante el período de residencia profesional se hicieron diferentes actividades para realizar el proyecto antes mencionado. Estas actividades comprenden todos los pasos para obtener resultados deseados.

4.1 Investigación y revisión bibliográfica. En las primeras semanas se hizo la búsqueda exhaustiva de información necesaria para llevar a cabo el proyecto de investigación; esta búsqueda fue en revistas especializadas de alto impacto a nivel internacional.

4.2 Molienda y tamizado de hojas secas de neem. En el laboratorio de Química de Materiales del CINVESTAV del IPN, Unidad Mérida ya se contaba con hojas secas del árbol de neem que posteriormente ya habían llevado un tratamiento de secado para su conservación y su uso a fututo. Para triturar las hojas se utilizó un equipo de molienda convencional que es utilizado en algunos hogares mexicanos para moler maíz y otros tipos de granos, posteriormente las hojas molidas se tamizaron pasando por las mallas con el número 20 y 40 para obtener los polvos de hojas.

Figura 4.

Figura 5.

Figuras 4 y 5. Equipos utilizados de molienda y tamizado respectivamente.

Figura 6. Polvos de hojas de Neem

4.3 Extracción de aceites de plantas. Específicamente la extracción se realizó con hojas de neem. Para este caso se emplearon diferentes métodos de extracción y para cada uno de ellos se hicieron tres repeticiones utilizando las mismas condiciones. A continuación se detalla cada uno de los métodos usados.

a) Extracción con equipo Soxhlet. Se montó el equipo para la extracción con las siguientes condiciones: 5 gramos de polvo de hojas secas de neem, el disolvente empleado fue etanol al 95% alcanzando su temperatura de ebullición con una manta de calentamiento durante un tiempo de 2 horas.

Extracción con equipo Soxhlet		
Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
Peso hojas= 5.004 gr V= 100 ml Etanol 95% T= 78°C; t=2 horas	Peso hojas= 5.002 gr V= 100 ml Etanol 95% T= 78°C; t=2 horas	Peso hojas= 5.007 gr V= 100 ml Etanol 95% T= 78°C; t=2 horas

Tabla 1. Condiciones de cada una de las pruebas de extracción con equipo soxhlet

Figura 7. Extracción con equipo Soxhlet

b) Extracción con placa de calentamiento. La extracción se realizó calentando en una placa de calentamientoel disolvente junto con los polvos de hojas contenidos en un matraz Erlenmeyer de 125 ml; para este caso las condiciones fueron las siguientes: 2.5 gramos de hojas secas de neem, 50 ml de etanol al 95% alcanzando su temperatura de ebullición durante una hora con agitación constante.

Tabla 2. Condiciones de cada una de las pruebas de extracción en placa de calentamiento

Extracción con placa de calentamiento		
Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
Peso hojas= 2.5019 gr V= 50 ml Etanol 95% T_{Placa}= 80°C; t= 1 hr	Peso hojas= 2.499 gr V= 50 ml Etanol 95% T_{Placa}= 80°C; t= 1 hr	Peso hojas= 2.500 gr V= 50 ml Etanol 95% T_{Placa}= 80°C; t= 1 hr

Una vez terminada cada extracción se hizo la filtración para separar los restos sólidos de los polvos de hojas del disolvente con el extracto, para ello se utilizó un kitasato de 125 ml conectado a una bomba que produce vacío en el sistema, un embudo Buchnner con capacidad de 60 ml y con filtro extraíble de diámetro de 24 mm y va de 70-100 micras, además se colocó papel filtro extra para evitar que el filtro extraíble se tapara o dejara pasar partículas sólidas.

c) Extracción con ultrasonido. Esta extracción fue similar a la de la placa de calentamiento con la diferencia que se utilizó un equipo de ultrasonido y la temperatura no fue tan alta. Las condiciones fueron las mismas: 2.5 gramos de hojas secas de neem, 50 ml de etanol al 95%. En cuanto al tiempo aplicado se hicieron repeticiones de 15 y 30 minutos a temperatura ambiente y a 65°C.

Tabla 3. Condiciones de cada una de las pruebas de extracción con ultrasonido

Extracción con ultrasonido			
Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Prueba 4
Se realizaron 3 repeticiones, cada una con un peso del polvo de 2.5011 gr, 2.499 gr y 2.5008 gr. V= 50 ml Etanol 95% T= Ambiente; t=15 minutos	Se realizaron 3 repeticiones, cada una con un peso del polvo de 2.5006 gr, 2.5010 gr y 2.500 gr. V= 50 ml Etanol 95% T= Ambiente t=30 minutos	Se realizaron 3 repeticiones, cada una con un peso del polvo de 2.4999 gr, 2.5002 gr y 2.5013 gr. V= 50 ml Etanol 95% T= 65°C t=15 minutos	Se realizaron 3 repeticiones, cada una con un peso del polvo de 2.5009 gr, 2.500 gr y 2.5016 gr. V= 50 ml Etanol 95% T= 65°C t=30 minutos

Al igual que la extracción con placa se hizo la filtración para separar los restos sólidos de los polvos de hojas del disolvente con el extracto, utilizando los mismos materiales: kitasato de 125 ml conectado a una bomba que produce vacío en el sistema, un embudo Buchnner con capacidad de 60 ml y con filtro extraíble de diámetro de 24 mm y va de 70-100 micras, además se colocó papel filtro extra para evitar que el filtro extraíble se tapara o dejara pasar partículas sólidas.

Figura 8. Extracción con Placa de Calentamiento

Figura 9. Extracción con Ultrasonido

Finalizada cada una de las diferentes extracciones se prosiguió a realizar la recuperación del etanol utilizado, para ello se utilizó un equipo rotavapor a 85 revoluciones por minuto con una temperatura de 74°C y alcanzando un vacío de 76 cmHg.

Figura 10. Recuperación de etanol con equipo Rotavapor

4.4 Análisis de extractos por FTIR. Los análisis FTIR para cada uno de los extractos se realizaron utilizando la técnica de Reflectancia Total Atenuada (ATR). Dichos análisis se llevaron a cabo en un espectómetro Thermo Nicolet Nexus 670-FTIR con el objetivo de conocer las señales características de los materiales.

4.5 Obtención de quitina y quitosano. Para este proceso se utilizaron cáscaras de camarón que ya se les había dado un tratamiento previo de secado y molienda acondicionando al material para su uso posterior. Con los pasos de desmineralización y desproteinización se obtendrá quitina, después se hará la desacetilación de la misma para que el producto sea quitosano.

a) Desmineralización del polvo de cáscara de camarón. Este procedimiento se llevó a cabo en un vaso de precipitados de 400 ml. Se utilizó una relación sólido-líquido 1:10 (10 gr de cáscara de camarón y 100 ml de HCl 1 M) del polvo de cáscara de camarón en una solución acuosa de HCl 1M, manteniendo una agitación constante a temperatura ambiente durante 3 horas.

Al finalizar el tiempo de reacción, la solución resultante se filtró en un embudo y papel filtro, lavando con agua destilada hasta alcanzar la neutralidad de la muestra. Como último paso de la desmineralización, el sólido resultante de la filtración se secó en un horno de secado a 50°C durante un tiempo que va de 2 a 24 horas.

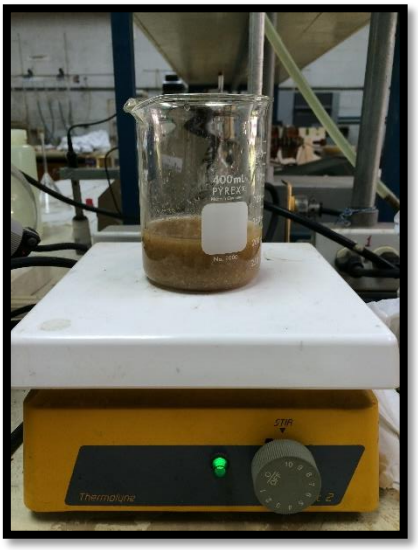


Figura 11. Proceso de Desmineralización.

Figura 12. Filtrado de la muestra.

b) Desproteinización de la muestra. Se utilizó un vaso de precipitados de 400 ml para este procedimiento. Para este caso la muestra pesaba 6.2464 gr y se puso a reaccionar con 150 ml de NaOH 1M con agitación constante durante 3 horas y manteniendo una temperatura de 50°C.

Seguidamente se filtró la solución en un embudo y papel filtro, haciendo lavados con agua destilada hasta alcanzar la neutralidad. Posteriormente se llevó al horno de secado durante un tiempo de 24 horas a una temperatura de 50°C.

Figura 13. Proceso de Desproteinización

Al concluir el proceso de desmineralización y desproteinización se obtuvo la quitina de la cáscara de camarón.

Figura 14. Quitina obtenida después de la Desproteinización

c) Desacetilación de la quitina. Una vez obtenida la quitina se sigue con la desacetilación de la misma para poder obtener el quitosano. Para este proceso se empleó un vaso de precipitados de 400 ml; la reacción se llevó a cabo con la quitina obtenida (3.9388 gr) y 100 ml de NaOH al 50% con agitación constante durante un tiempo de 2 horas y una temperatura de 105°C. Finalizando este procedimiento se filtró y neutralizó la muestra, después se secó durante 24 horas en un horno de secado a 50°C. El producto final fue quitosano.

Figura 15. Quitosano obtenido de la desacetilación de la Quitina.

4.6 Elaboración de películas de quitosano. Para la elaboración de las películas se hizo la dilución del quitosano en ácido acético al 1%. Se hicieron 4 películas, tres de éstas con el método de vaciado y una con el método de Spray pirolisis. Cada película se hizo a diferentes condiciones.

Figura 16. Quitosano disuelto en CH_3COOH al 1%

4.6.1 Método de vaciado. En este método se diluyó 0.5 gramos del quitosano en ácido acético al 1% y posteriormente se hizo la evaporación del ácido en un baño con agua caliente a 53°C para que la película quedara formada sobre una superficie plana de vidrio.

- Película 1. Se diluyeron 0.5017 gr de quitosano en 85 ml de ácido acético al 1%, posteriormente se depositaron 55 ml de la solución en una caja petri de vidrio para ser llevada a un baño de calentamiento a una temperatura de 53°C, en el cual se llevó a cabo la evaporación del ácido acético.
- Película 2. En este caso se diluyó 0.5005 gr de quitosano en 30 ml de ácido acético al 1%, posteriormente se depositaron 20 ml de la solución en una caja petri de vidrio para ser llevada a un baño de calentamiento a una temperatura de 53°C.
- Película 3. De los 10 ml que sobraron de la solución usada para obtener la película 2 se obtuvo ésta tercera película por el método de vaciado; la solución se depositó en una caja petri de vidrio y

posteriormente fue llevada a un baño de calentamiento a una temperatura de 53 °C.

Figura 17. Baño de calentamiento

Figura 18. Película de quitosano por método de vaciado.

4.6.2 Método de Spray pirolisis. Para este método se diluyeron 0.5 gramos de quitosano en 30 ml de ácido acético al 1%, después se depositaron 20 ml de la solución en el aspersor de baja presión de gas de 50 ml, se encendió el flujo de gas nitrógeno para aumentar la presión de salida del aspersor; se colocó una caja petri de vidrio en una placa vertical de calentamiento para que ésta secara al líquido al momento de entrar en contacto con la superficie. La temperatura de la placa fue de 75°C.

Figura 19. Método de Spray pirolisis

Después de elaborar las películas dequitosano se hicieron las películas de quitosano con el extracto de neem con el método de vaciado, agregando glicerol para gelificar la película y usando un baño de calentamiento a 53°C para la evaporación del ácido acético.

Tabla 4. Condiciones de cada una de las películas de quitosano con extracto de neem.

Películas de quitosano con extracto de neem		
Película con extracto 1	Película con extracto 2	Película con extracto 3
5 ml de quitosano 1.25 ml (25 gotas) glicerol 1 gota del extracto obtenido con el equipo soxhlet	5 ml de quitosano 1.25 ml (25 gotas) glicerol 1 gota del extracto obtenido con la placa de calentamiento	5 ml de quitosano 1.25 ml (25 gotas) glicerol 1 gota del extracto obtenido con ultrasonido

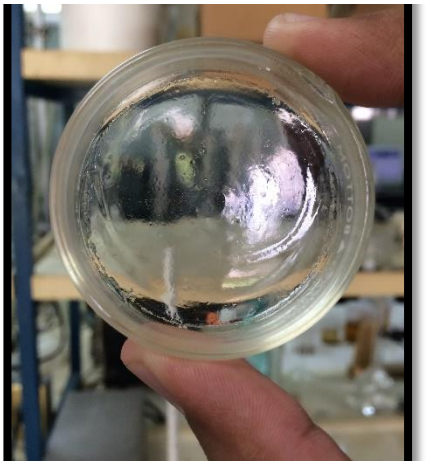


Figura 20. Película de quitosano con extracto de neem.

4.7 Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier. Los análisis FTIR para cada uno de las películas con y sin extracto se realizaron utilizando la técnica de Reflectancia Total Atenuada (ATR). Dichos análisis se llevaron a cabo en un espectómetroThermo Nicolet Nexus 670-FTIR con el objetivo de conocer las señales características de los materiales.

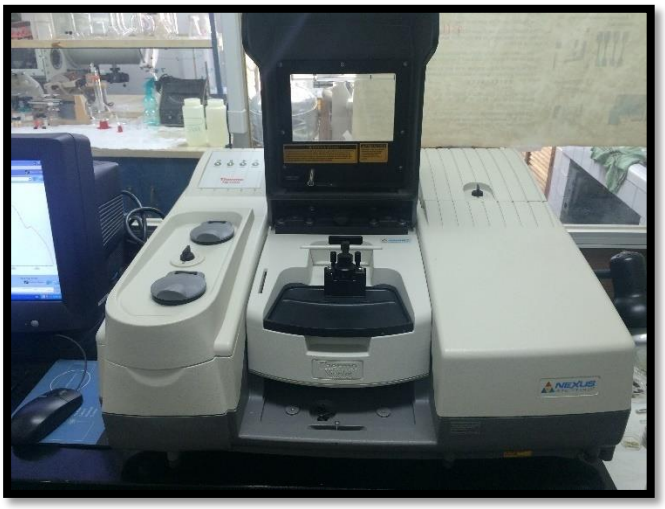


Figura 21. Equipo FTIR ThermoNicoletNexus 670-FTIR

4.8 Análisis mecánico dinámico. Se realizó este tipo de análisis en un equipo DMA modelo Q800 marca TA-INSTRUMENT para las películas de quitosano y determinar sus propiedades mecánicas.

Figura 22. Equipo DMA Q800 TA-INSTRUMENT

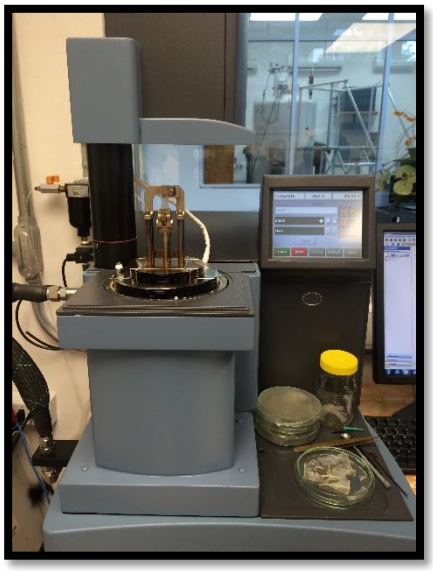


Figura 22. Equipo DMA abierto.

CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Análisis de extractos y películas

5.1 Análisis por Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier

En la figura 23, se muestra el espectro FTIR de las muestras de los extractos de neem obtenidos en la placa de calentamiento.

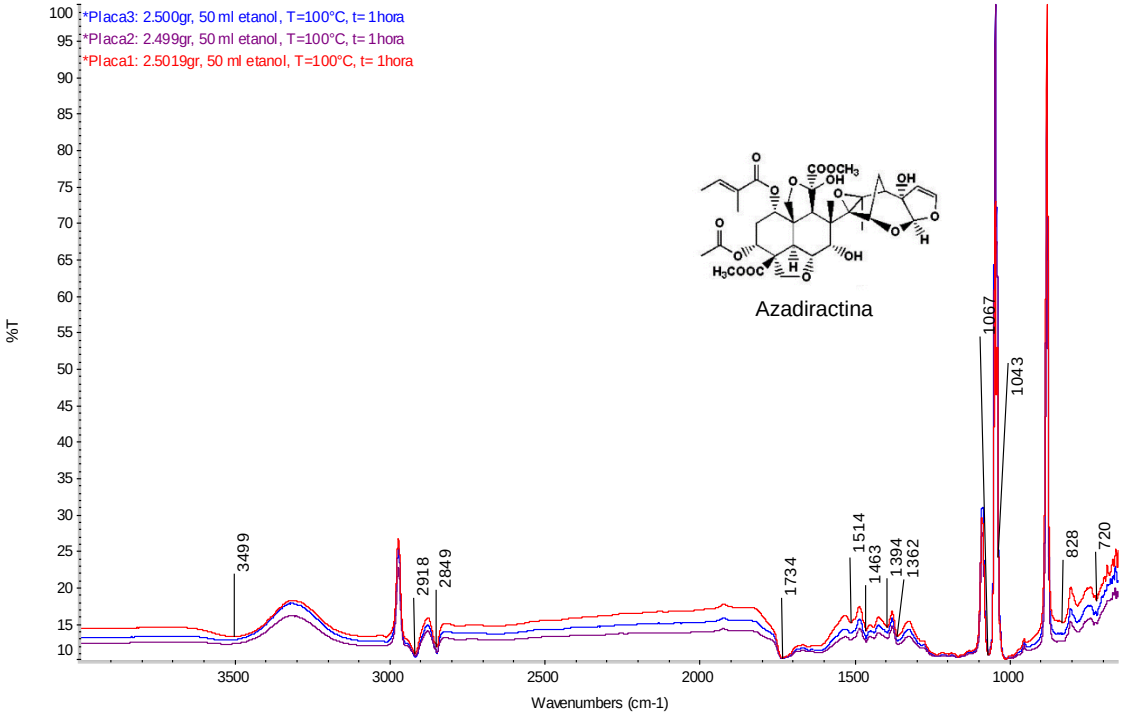
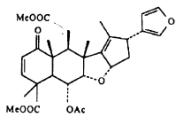
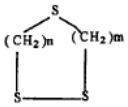


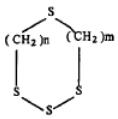
Figura 23. Espectro FTIR de extracto de neem.



Nimbina



Trisulfuro cíclico



Tetrasulfuro cíclico

A continuación se muestran los grupos a los que corresponde cada uno de los picos encontrados durante el análisis.

Tabla 5. Grupos funcionales de cada uno de los picos encontrados del espectro FTIR de los extractos de neem

Número de onda (cm^{-1})	Grupo funcional
720	Estiramiento del grupo OH alcohólico
828	Doblez C-H aromático; tensión peróxidos C-O-O
1043	Vibraciones de anillos ciclohexano; dobleces CH-aromático; ion fosfato.
1067	
1362	OH- Alcohol terciario
1394	Sulfatos orgánicos

1463	Estiramiento de anillos aromáticos
1514	$C=CH_2$
1734	Éster del grupo carbonilo
2849	Estiramiento simétrico C-H del grupo CH2
2918	Estiramiento asimétrico C-H del grupo CH2
3499	Estiramiento del grupo OH humedad

En la figura 24, se muestra el espectro FTIR en los análisis de las películas de quitosano, se determinaron los grupos funcionales característicos.

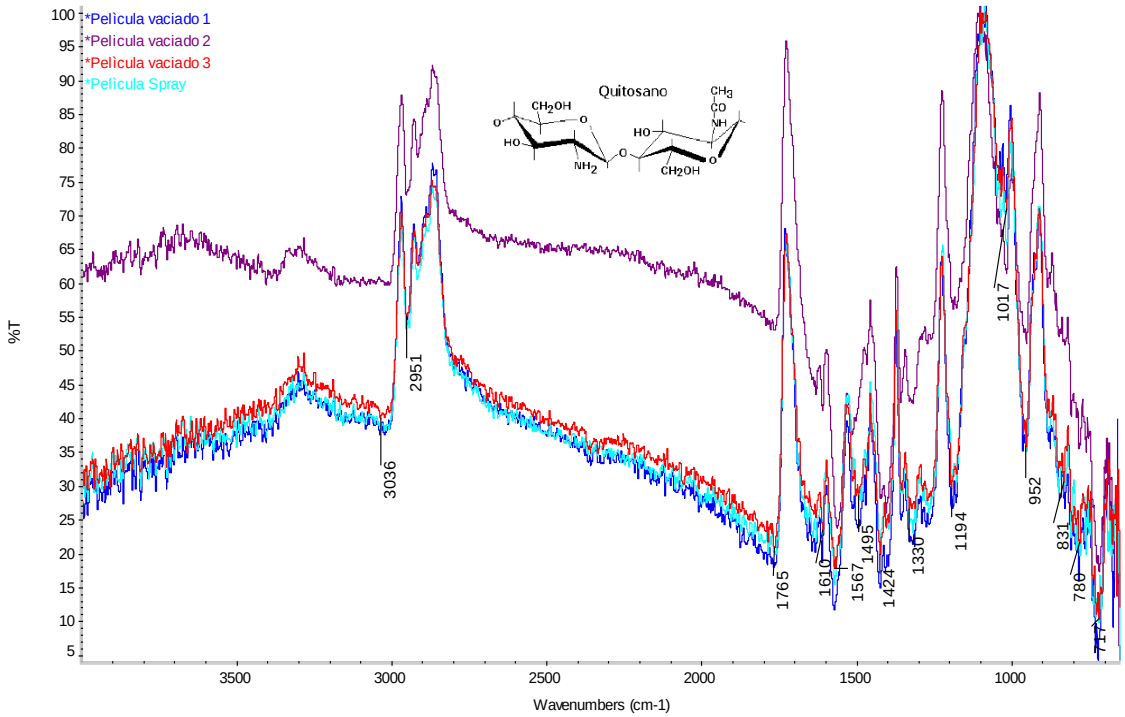


Figura 24. Espectro FTIR de películas de quitosano.

Tabla 6. Grupos funcionales de cada uno de los picos encontrados del espectro FTIR de las películas de quitosano

Número de onda (cm^{-1})	**Grupo funcional**
831	Vibraciones C=O en el ion Carbonato
952	Estiramiento en enlaces C-C
1017	Ion Carbonato CO3
1194	Estiramiento en grupo C-H
1330	Flexiones de enlaces N-H
1424	Ion Carbonato
1495	Componentes nitro aromáticos
1567	Flexiones de enlaces N-H
1610	Flexiones de enlaces N-H; Estiramiento en grupos C=C y C=N
1765	Estiramiento del enlace C=O del grupo CH3CO
2961	Estiramiento simétrico C-H del grupo CH2
3036	Estiramiento del grupo C-H vinílico

En la figura 25, se muestra el espectro FTIR de los análisis de las películas de quitosano que contienen el extracto de neem.

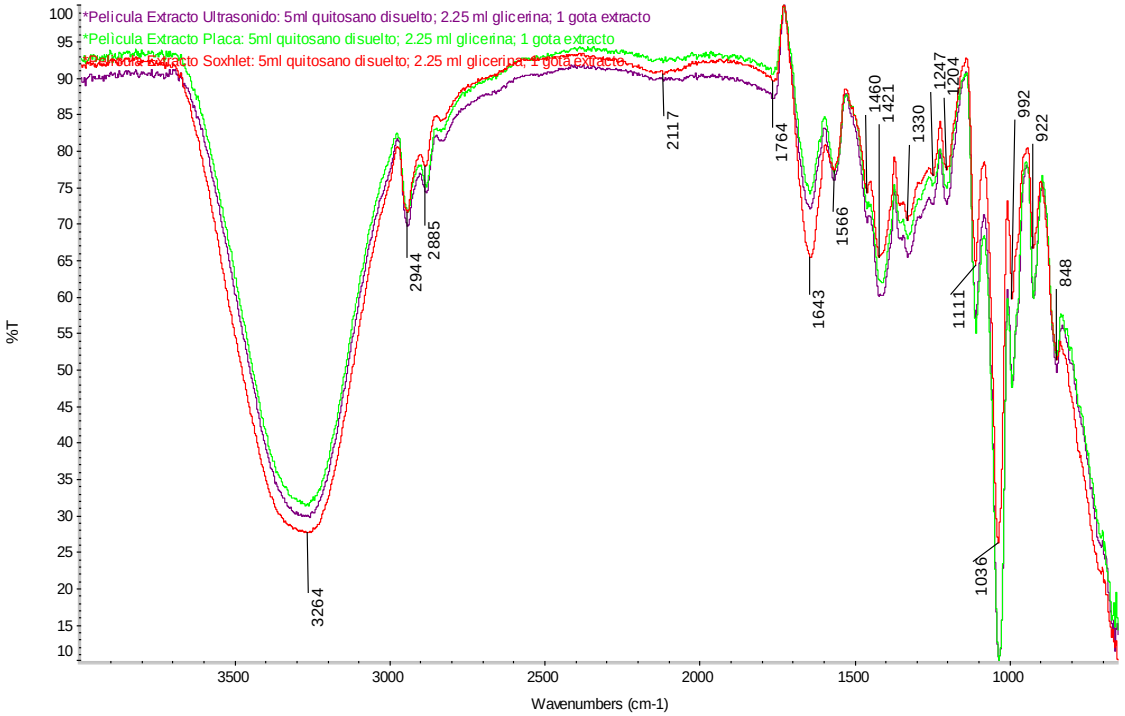


Tabla 7. Grupos funcionales de cada uno de los picos encontrados del espectro FTIR de las películas de quitosano con extracto de neem

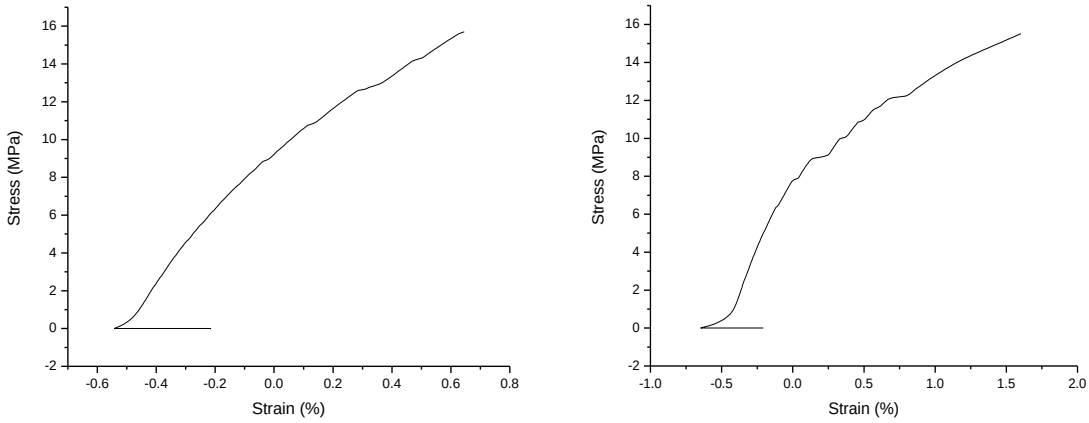
Número de onda (cm^{-1})	Grupo funcional
848	Doblez C-H aromático; tensión peróxidos C-O-O
922	Fosfatos aromáticos (estiramiento P-O-C)
992	Fosfatos alifáticos (estiramiento P-O-C)
1036	Vibraciones de anillos ciclohexano; dobleces CH-aromático; ion fosfato y silicato; fosfatos alifáticos estiramientos P-O-C; estiramientos CF-componentes fluoro alifáticos.
1111	Ion Sulfato SO4
1204	Sulfatos orgánicos
1247	Flexiones del grupo OH
1330	Flexiones de enlaces N-H
1421	Ion Carbonato
1460	Doblez C-H metileno; estiramiento de anillos aromáticos (C=C-C); ion carbonato
1566	Flexiones de enlaces N-H
1643	Estiramiento en grupos C=C y C=N
1764	Estiramiento del enlace C=O del grupo CH3CO
2885	Estiramiento simétrico C-H del grupo CH2
2944	Estiramiento asimétrico C-H del grupo CH2
3264	Estiramiento de enlaces N-H; humedad

5.2 Análisis Dinámico Mecánico

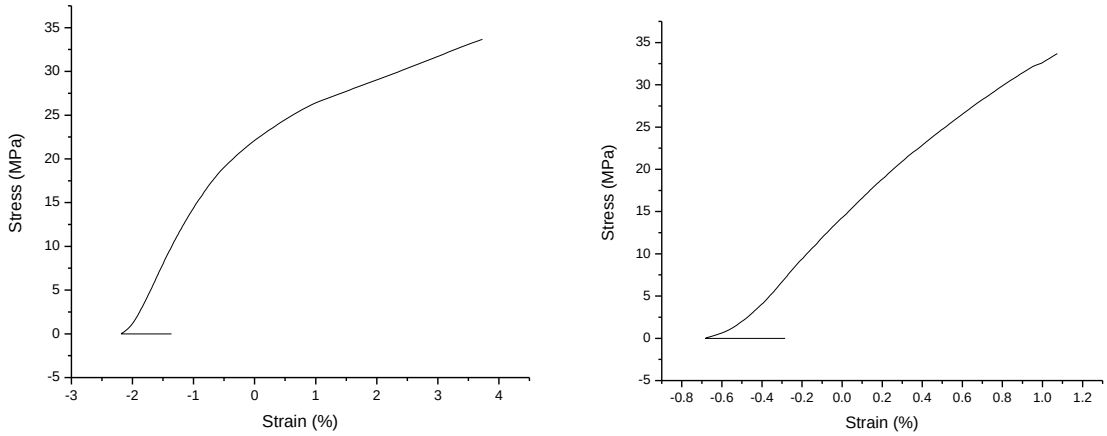
Pruebas de elongación de películas de quitosano

Tabla 8. Dimensiones de cada una de las muestras de películas de quitosano para el análisis DMA.

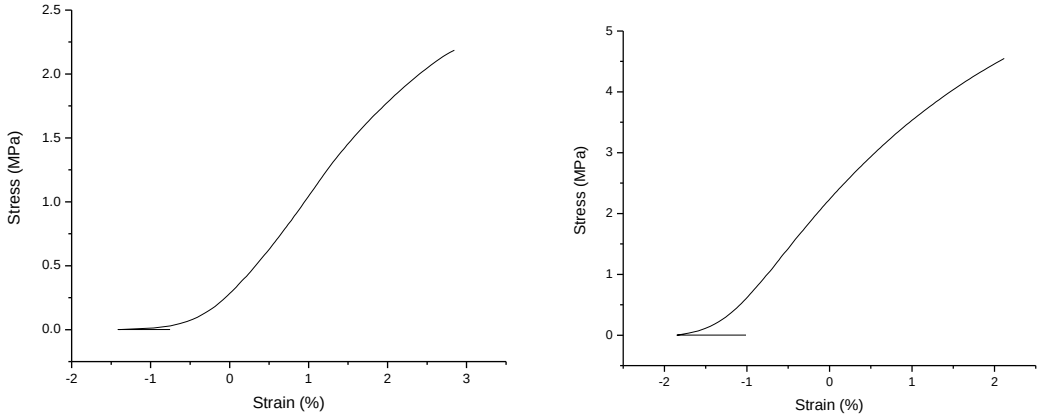
Dimensiones de las muestras para el análisis DMA (mm)			
Muestra	**Largo**	**Ancho**	**Espesor**
Película vaciado 1	18.4700	8.87000	0.06
Película vaciado 2	16.0100	9.96000	0.114
Película vaciado 3	16.4900	16.4900	0.07
Película spray	15.8300	8.50500	0.08



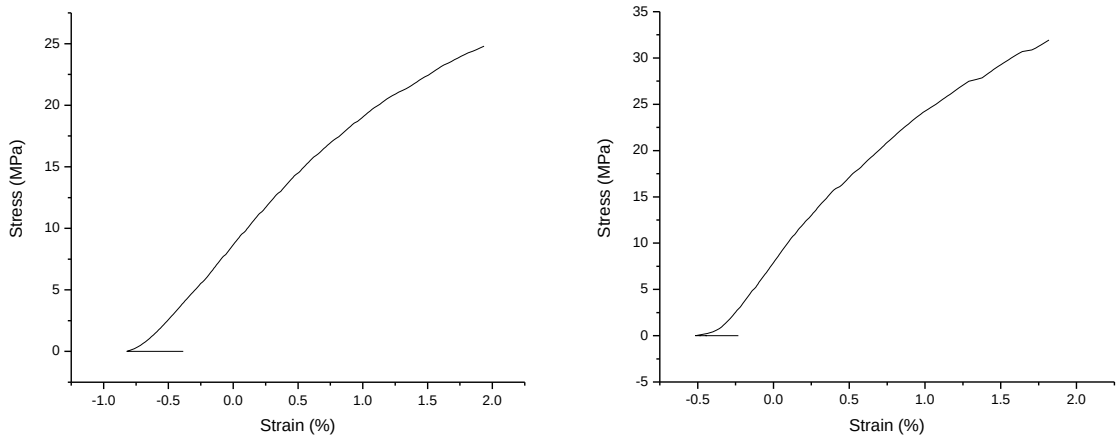
Película Vaciado 1. Espesor de película= 0.06 mm. Prueba 1 y 2.



Película Vaciado 2. Espesor de película= 0.114 mm. Prueba 1 y 2.



Película Vaciado 3. Espesor de película= 0.07 mm. Prueba 1 y 2.



Película Spray. Espesor de película= 0.08 mm. Prueba 1 y 2.

5.3 Discusión de resultados

Análisis FTIR

Extractos.

- Los espectros de FTIR de las extracciones de neem muestran claramente la presencia de grupos funcionales presentes en los componentes mayoritarios en la planta de neem que es la Azadiractina (AZA), grupos OH y vibraciones de anillos ciclohexano. En la región de 1000 cm^{-1} a 2000 cm^{-1} se pueden identificar dichos grupos funcionales; además presenta algunos sulfatos, estos corresponden a trisulfuros y tetrasulfuros cíclicos.
- Comparando todos los espectros de las diferentes formas de extracción no se encontró alguna diferencia significativa; en cada uno de ellos se identificaron los mismos picos y por lo tanto los mismos componentes.

Películas de quitosano

- En los picos de los espectros se identificaron componentes que pertenecen a la estructura química del quitosano. En el número de onda 1017 cm^{-1} y 1424 cm^{-1} se encuentra la presencia del ion carbonato; en 1330 cm^{-1} y 1567 $cm^{-1,}$ se localizan las flexiones en los enlaces N-H que corresponden a aminas características del quitosano; en 1610 cm^{-1}, existen flexiones en los enlaces N-H, pero también hay estiramientos en grupos C=C y C=N. La señal 1765 cm^{-1} corresponde al estiramiento del enlace C=O del grupo CH_3CO; a 2961 cm^{-1} y 3036 cm^{-1}, son correspondientes al estiramiento simétrico C-H del grupo CH_2 y al estiramiento del grupo C-H vinílico respectivamente.

Películas de quitosano con extracto de neem

- En este caso, los espectros muestran algunas señales que corresponden al extracto y otras al quitosano. En 922 cm^{-1} y 992 cm^{-1}, se encuentran algunos fosfatos aromáticos y alifáticos respectivamente; a 1111 y 1204 cm^{-1}, se localizan algunos sulfatos orgánicos, mientras que en 1330 cm^{-1}, hay

flexiones en los enlaces N-H. Presencia del ion carbonato en 1421 y 1460 cm^{-1}. En 2885 y 2944 cm^{-1}, están los estiramientos simétrico y asimétrico respectivamente, del grupo CH_2.

Análisis DMA

- Como se observa en todas las gráficas, al principio la línea de tendencia se desplaza hacia el lado negativo sobre el eje X, este fenómeno ocurre debido a que el equipo está estabilizando la muestra para comenzar el análisis. Cuando la muestra se contrae, su desplazamiento es negativo; y cuando se elonga, éste desplazamiento es hacia el lado positivo.
- Para las pruebas de la película de 0.06 mm de espesor, la tensión aplicada en ambas pruebas fue la misma; lo que hace diferente a estas pruebas es que la prueba 2 logra tener un mayor porcentaje de estiramiento en comparación a la prueba 1.
- Al igual que en el caso anterior, la película de espesor 0.114 mm, se le aplica la misma tensión en ambas pruebas. La prueba 1 fue la que tuvo mayor porcentaje de estiramiento. La línea de tendencia de la prueba 2 es más recta que la de la prueba 1, posiblemente se deba a que esa parte de la película fue más homogénea que el resto de la misma.
- En la película con espesor de 0.07 mm, se observa que no es aplicada la misma fuerza de tensión en ambas pruebas, esto es consecuencia a que durante el análisis la prueba 1 no soportó la fuerza aplicada e hizo que ésta se rompiera, soportando una fuerza máxima de 2.5 MPa. El porcentaje de estiramiento es casi similar al de la prueba 2.
- En el análisis de la película con el espesor de 0.08 mm, se logra tener el mismo porcentaje de estiramiento; lo que hace diferente a la prueba 1 de la 2, es que en la primera no se aplica la misma fuerza de tensión, por la misma razón que en la película de 0.07mm de espesor, se rompió durante la prueba, llegando a soportar 25 MPa de tensión.
- Si se compara la forma de la gráfica en las pruebas de cada uno de los análisis, se puede observar cómo algunas son más curvas y otras

menoscurvas; esto como se mencionó anteriormente se debe a la homogeneidad que logró tener cada parte de la película.

- Debido a que las películas de quitosano que contenían extracto se quedaban adheridas a la superficie del material utilizado para su elaboración (vidrio), no fue posible despegarlas y realizar un análisis DMA de éstas.

CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- Los extractos obtenidos con los diferentes métodos de extracción presentan el mismo contenido de componentes.
- El método de extracción más eficiente fue el de ultrasonido, al disminuir significativamente los tiempos de extracción.
- Se logró reducir el tiempo de obtención de películas de quitosano utilizando la técnica de spray pirolisis.
- Gracias al análisis hecho de Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier, se logró identificar los componentes característicos de cada una de las sustancias analizadas.
- Las películas de quitosano no fueron totalmente homogéneas, debido a que la superficie (caja petri de vidrio) sobre la que se encontraban no era completamente uniforme.
- La película que presentó mayor resistencia a las pruebas DMA fue la del espesor de 0.114 mm, logró soportar 35 MPa de tensión, alcanzando casi 4% de estiramiento.

Recomendaciones

- Realizar las extracciones por medio del ultrasonido en las condiciones obtenidas.
- Utilizar un material diferente al vidrio para elaborar las películas gelificadas con extracto de neem para evitar que se peguen.
- Hacer el análisis DMA de las películas de quitosano con el extracto de neem.

BIBLIOGRAFÍA

- Austin, P.R., et al., *Chitin: new facets of research.* Science, 1981. 212(4496): p. 749-753.
- Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat, M.A., Peticolas, E., Meklati, B.Y., Chemat, F. 2009. Comparison of twoisolationmethodsforessentialoilfrom Rosemary leaveshydrodistilation and microwavehidrodiffusion and gravity. *FoodChemistry.*114:355-362.
- Chopra, R. N., Nayer, S. L. and Chopra, I. C. 1956 Glossary of Indian Medicinal Plants, CSIR, New Delhi.
- Chua, M. T., Tung Y. y Chang S. 2008. *Antioxidantactivities of ethanolicextractsfrom of Cinammommasmophloeum. Bioresourcetechnology.* 99:1818-1925.
- Crini, G. 2005. “Recentdevelopments in plysaccharide-based material used as adsorbents in wastewatertreatmet”. *Prog. Polym. Sci.* Vol. 30 pp.38-70.
- Cutler J. S., Cutler H. G., 2000. “Bologically active natural products: pharmaceuticals”. Whasington, D. C: CRS Press Boca Raton London New York, pp 95-107.
- Damour, O., Braye, F.M., Stefani, A., Venet, E., Pieptu, D., y Tissot, E. “Grafting of LargePieces of Human Reconstructed Skin in a Porcinemodel”. *Br. J. Plast. Surg.* 54(6), 532-538. (2001).
- Del Valle, J.M. y Aguilera, J.M. 1999. Review: highpressure CO2 extraction. Fundamentals and applications in thefoodindustry. *FoodScience and Technology*. 5(1):1-24.
- Fair, J.R. 1987. Distillation. En R.W. Rousseau (Ed). *Handbook of SeparationProcesstechnology.* Wiley. Nueva York. Estados Unidos de América. Pp. 229-339.
- Gidas M., Garnier O. *WaterResearch***, 1,** 47-56 (1999).
- Guan, W., Li, S., Yan, R., Thang, S. y Quan,C. 2007. Comparison ofessentialoils of clovebudsextractedwithsupercriticalcarbón dioxide and otherthreetraditionalextractionmethods. *FoodChemistry*. 86:587-591.
- Heller, K., Claus, L., y Huber, J. Zeit. Natuforsch. 14, 476. (1959).

- IndianAgriculturalResearchInstitute (IARI). 1983. Neem in agricultura: I Chemistry of neembitterprinciples. *Res. Bull.* 40. 15p.
- Kimbaris, A.C., Siatis, N.G., Daferera, D.J., Tarantilis, P.A., pappas, C.S., y Polissiou, M.G. 2006. Comparision of distillation and ultrasoundassistedextractionmethodsfortheisolation of sensitive aroma compoundsfromgarlic (*Alliumsativum*). *UltrasonicsSomochemistry*. 13: 54-60.
- Kin Y. *AdvanceChitinScience*, **2**, 837-844 (1997).
- Laréz, C. 2008. "Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro". *Avances en Química.* Vol. 1 pp. 15-21.
- Martínez, A. 2003. *Aceites esenciales.* Universidad de Antioquía. Medellí. Colombia.
- Murphy, M. 1999. Plantsproducts as antimicrobialagents. ClinicalMicrobiologyReview. American SocietyforMicrobiology. 12 (4): 564-582.
- Nice J. Hierbas medicinales y recetas caseras. Primera edición. México 1993, Ed. Paidos. Pp. 11-13.
- Ortuño, M. F, 2006. *Manual Práctico de Aceites Esenciales, Aromas y Perfumes.* Aiyana. España. 274p.
- Proestos, C. y Komaitis, M. 2006. Ultrasonicallyassistedextraction of phenoliccompoundsfromaromaticplants: comparisionwithconventionalextractiontechniques. *Quality Journal of Food.* 29: 567-582.
- Roberts, G.A.F., *ChitinChemistry*. 1992, London: TheMacmillanPress Ltd.
- Rzedowski, J. &Equihua, M. 1987. Atlas cultural de México. Ed. Secretaría de Educación Pública. Instituto Nacional de Antropología e Historia. Dpo. Editorial Planeta. México. pp 14-16.
- Sefidkon, F., Abbasi, K, y Khaniki, G. B. 2006. Influence of drying and extractionmethodsonngbre (*Zingiberofficinale), Revista Amazónica de Investigación Alimentaria,* 1(1):38-42. Universidad Nacional Amazónica del Perú. Perú.

- Skoog D.A., Holler, F.J., Nieman T.A. 2001. “Principios de análisis instrumental”. Mc Graw Hill. España. Pp.435-458.
- Synowiecki, J., *Therecovery of proteinhydrolyzateduringenzymaticisolationofchitinfromshrimpCrangonprocessingdiscard.* FoodChem., 2000. **68**(2): p. 147-52.
- Thakur, R. S., Singh, S. B. and Goswami, A. 1981 *Curr*. *Res*. *Med*.*Aromat*. *Plants*, 3:135–140
- Trung, T.S., Thein-Han, W.W., Qui, N.T., Chuen-How, N., y Stevens W.F. 2006. “Functionalcharacteristics of shrimpchitosan and itsmembranes as affectedbythedegree of deacetylacio”. *BiosourceTechnology*. Vol. 97 pp. 659-663.
- Wang G., Xu J., Ye L., Zhu J., Chen H. “Highlysensitivesensorsbasedontheimmobilization of tyrosinase in chitosan”. *Bioelectrohemistry***, 57**, 33- 38 (2002).
- Wankat, P.C. 1988. *EquilibriumStagedSeparations. Separations in Chemicalyield and chemicalcomposition of theessentialoil of Saturejahortensis. FoodChemistry.* 99: 19-23
- Wu, L, Lee, K., Wang, X., English, D., Losert, W., and Payne, G. “Chitosan-mediated and SpatiallyselectiveElectrodeposition of Nano-scaleParticles”. *Langmuir***, 21,** 3641-3646 (2005).
- Zhu J., Zhu Z., Lai Z., Wang R., Guo X., Wu X., Zhang G., Zhang Z., Wang Y., Chen Z. “PlanarAmperometricGlucose Sensor BasedonGlucose Oxidase ImmobilizedbyChitosan Film onPrussian Blue”. *Sensors***, 2,** 127-136 (2002).