

Evaluación de un recubrimiento de quitosano obtenido de *Aspergillus niger* en una forma farmacéutica de liberación modificada (FLM)

José Stevens González Gutiérrez

Programa de Química Farmacéutica
Facultad de Ingeniería, Diseño y Ciencias Aplicadas
Universidad Icesi

Santiago de Cali

2024

Evaluación de un recubrimiento de quitosano obtenido de *Aspergillus niger* en una forma farmacéutica de liberación modificada (FLM)

José Stevens González Gutiérrez

Trabajo de grado para optar al título de Químico Farmacéutico

Tutor: Nora Elena Valderruten Posso Ph.D.

Cotutor: Carolina Del Pilar Mora Guerrero Ph.D.

Programa de Química Farmacéutica

Facultad de Ingeniería, Diseño y Ciencias Aplicadas

Universidad Icesi

Santiago de Cali

2024

AVAL PARA LA ENTREGA DE PDG 2

Firma del Tutor:

Nora E. Valderruten

Nora Elena Valderruten Posso, Ph.D.

Firma del Cotutor:

CPG

Carolina del Pilar Mora Guerrero, Ph.D.

Firma del estudiante:

J. Stevens González G.

José Stevens González Gutiérrez

Tabla de Contenido

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. MARCO TEORICO	4
2.1 QUITINA	4
2.2 QUITOSANO	4
2.2.1 Importancia	5
2.2.2 Fuentes posibles	6
2.3 <i>Aspergillus niger</i>	7
2.4 ADMINISTRACIÓN VIA ORAL	7
2.5 FORMA DE LIBERACION MODIFICADA (FLM)	7
3. OBJETIVOS	10
3.1 OBJETIVO GENERAL	10
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
4. METODOLOGIA	11
4.1 DISEÑO METODOLOGICO	11
4.1.1 Tipo de estudio	11
4.1.2 Población y muestra-objeto de estudio	11
4.1.3 Variables de estudio	11
4.1.4 Procedimiento de recolección de la información	11
4.1.5 Métodos para el control de la calidad de los datos	12
4.1.6 Forma de presentación y divulgación de los resultados	12

4.2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL	12
4.2.1 Obtención del quitosano	12
4.2.2 Realización de los ensayos instrumentales	13
4.2.3 Obtención de tabletas recubiertas con la película de quitosano	13
<i>4.2.3.1 Selección de tabletas sin recubrimiento</i>	13
<i>4.2.3.2 Preparación de la dispersión acuosa de recubrimiento del quitosano obtenido</i>	13
<i>4.2.3.3 Aplicación de la dispersión acuosa de recubrimiento de quitosano obtenido sobre las tabletas de ibuprofeno</i>	14
4.2.4 Realización de los ensayos para las tabletas recubiertas	14
5. RESULTADOS Y DISCUSION	16
5.1 ENSAYO DE OBTENCIÓN DE QUITOSANO #1	16
5.2 ENSAYO DE OBTENCIÓN DE QUITOSANO #2	18
5.3 ENSAYO DE OBTENCIÓN DE QUITOSANO #3	21
5.4 CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO OBTENIDO	23
5.4.1 Grado de deacetilación (% DDA) de segunda extracción de quitosano	23
5.4.2 Grado de deacetilación (% DDA) de tercera extracción de quitosano	24
5.4.3 Espectroscopia de Infrarrojo (FTIR) y calorimetría diferencial de barrido (DSC)	26
<i>5.4.3.1 Espectroscopia de Infrarrojo (FTIR) de segunda extracción de quitosano</i>	26
<i>5.4.3.2 Espectroscopia de Infrarrojo (FTIR) de tercera extracción de quitosano</i>	28
<i>5.4.3.3 calorimetría diferencial de barrido (DSC) de segunda extracción de quitosano</i>	29
<i>5.4.3.4 calorimetría diferencial de barrido (DSC) de tercera extracción de quitosano</i>	29
5.5 ENSAYO DE RECUBRIMIENTO CON QUITOSANO COMERCIAL	30
5.6 ENSAYO DE RECUBRIMIENTO CON QUITOSANO DE EXTRACCIÓN #3	34
5.6.1 Preparación de los tratamientos de la formulación #2	34
5.6.2 Preparación de los tratamientos de la formulación #3	35
5.6.3 Preparación de los tratamientos de la formulación #4	36

5.6.4 Preparación de los tratamientos de la formulación #5	37
5.7 ENSAYO DE PRUEBA DE DISOLUCIÓN CON QUITOSANO DE EXTRACCIÓN #3	39
6. CONCLUSIONES	42
7. AGRADECIMIENTOS	43
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
ANEXOS	47

Lista de Tablas

Tabla 1. Grado de deacetilación de quitosano obtenido	24
Tabla 2. Grado de deacetilación de quitosano obtenido de la nueva extracción	26
Tabla 3. Número de onda de bandas características	28
Tabla 4. Pesos de los componentes de cada tratamiento preparado con quitosano comercial	31
Tabla 5. Condiciones de operación de bombo de recubrimiento	33
Tabla 6. Pesos de los componentes de cada tratamiento preparado con quitosano obtenido en la formulación #2	35
Tabla 7. Pesos de los componentes de cada tratamiento preparado con quitosano obtenido en la formulación #3	36
Tabla 8. Pesos de los componentes del tratamiento preparado con quitosano obtenido en la formulación #4	37
Tabla 9. Pesos de los componentes de cada tratamiento preparado con quitosano obtenido en la formulación #5	38
Tabla 10. Condiciones de operación de equipo de disolución	39

Lista de Figuras

Figura 1. Estructura química del quitosano	4
Figura 2. Estructura química de la quitina	5
Figura 3. Concentraciones de formulaciones de liberación retardada e inmediata	8
Figura 4. Concentraciones de formulaciones de liberación prolongada e inmediata	9
Figura 5. Masa del micelio seco	16
Figura 6. Mezcla de micelio con soda	16
Figura 7. Montaje de extracción	16
Figura 8. Montaje empleando aceite vegetal	16
Figura 9. Lavado de la pasta	17
Figura 10. Pasta en solución ácida	17
Figura 11. Pasta en solución ácida pasado dos días	17
Figura 12. Extracto después de adicionar solución alcalina	17
Figura 13. Micelio seco #2 y montaje a gran escala para realizar hidrólisis	18
Figura 14. Realización de hidrólisis alcalina	18
Figura 15. Lavados preliminares de la pasta después de la hidrólisis	18
Figura 16. Lavados posteriores de la pasta hasta disminución de pH	19
Figura 17. Centrifugación de la solución de la pasta	19
Figura 18. Adición de soda al extracto de la centrifugación	19
Figura 19. Sólido precipitado del extracto alcalino	20
Figura 20. Segunda adición de soda al extracto y sólido precipitado después de centrifugación	20
Figura 21. Quitosano obtenido después de secado a temperatura ambiente	20
Figura 22. Quitosano obtenido macerado después de secado en horno	21
Figura 23. Montaje a gran escala para hidrólisis alcalina de nuevo micelio	21
Figura 24. Lavado de la pasta total obtenida de las dos tandas hidrolizadas	21

Figura 25. Pasta en solución ácida dejada en reposo por cinco días	22
Figura 26. Quitosano precipitado después de la alcalinización	22
Figura 27. Pesos finales de la obtención de quitosano #3	22
Figura 28. Titulación potenciométrica para determinar el % DDA de obtención de quitosano #2	23
Figura 29. Titulación potenciométrica para determinar el % DDA de obtención de quitosano #3	24
Figura 30. Equipo de Infrarrojo (FTIR) utilizado y muestra compactada en pastilla de KBr	26
Figura 31. Espectro FTIR de extracción de quitosano #2	27
Figura 32. Espectro FTIR de quitosano comercial Sigma Aldrich	27
Figura 33. Equipo de DSC utilizado y muestra acondicionada en el pinhole	29
Figura 34. Termograma de DSC de extracción de quitosano #3	30
Figura 35. Pesos de quitosano comercial empleados en los tratamientos	31
Figura 36. Tratamientos preparados en ácido clorhídrico (HCl) 1 % y ácido acético (HAc) 1 %	31
Figura 37. Partes del equipo de recubrimiento: bombo de recubrimiento con sistema de deflectores, miniaerógrafo, rotor “ERWEKA” #2, sistema de calentamiento de aire “ESTELAR” con sus respectivas tuberías y línea de aire comprimido regulado a 50 psi	32
Figura 38. equipo de recubrimiento ensamblado	32
Figura 39. Aspersión de tratamiento de quitosano comercial de 2 % de concentración en HAc 1 % sobre núcleos de ibuprofeno y secado a 45°C	33
Figura 40. Peso final de núcleos recubiertos	33
Figura 41. Adhesión de las tabletas en el bombo de recubrimiento y efecto de la solución aplicada en los núcleos	34
Figura 42. Desintegración de las tabletas de ibuprofeno	35
Figura 43. Tabletado de acetaminofén con fragmentación	36
Figura 44. Tabletado de acetaminofén con quitosano en la superficie	37
Figura 45. Tratamiento de la formulación #5	38

Figura 46. Tabletas de acetaminofén con mayor cantidad de quitosano en la superficie	38
Figura 47. Verificación de la temperatura de la solución en cada uno de los vasos del disolutor	39
Figura 48. Condiciones de operación de equipo de disolución	40
Figura 49. Tabletas disueltas en los vasos del equipo de disolución	40

RESUMEN

El presente trabajo tiene como finalidad evaluar el uso del quitosano obtenido de *Aspergillus niger* como película de recubrimiento en tabletas de un fármaco modelo, que actúan como forma farmacéutica de liberación modificada (FLM). Después de la hidrólisis alcalina del micelio seco y varias etapas de purificación de la pasta resultante, se alcanzó un rendimiento de 4,20 % de quitosano. Mediante procesos de caracterización fisicoquímica y térmica del quitosano obtenido se obtuvo un grado de deacetilación (% DDA) de 41,34 %, un espectro de IR que muestra los grupos funcionales característicos del quitosano como son: O-H, C-H, C-O, N-H y C-N y que se comparó con el espectro de IR del quitosano comercial evidenciando las mismas señales. Además, se obtuvo el termograma del quitosano mediante DSC con una Tg de 225.53 °C cuyo valor es cercano al del quitosano reportado en la literatura.

Para la realización del ensayo de recubrimiento de la forma farmacéutica de liberación modificada (FLM) se realizaron cinco formulaciones, cada una con diferente número de tratamientos que fueron aplicados en el equipo de recubrimiento a condiciones estandarizadas, siendo la formulación #5 la más adecuada en términos de área recubierta. Posteriormente, en las pruebas de disolución para la evaluación del desempeño del recubrimiento de quitosano obtenido no se consiguió que se cumpliera con el comportamiento de liberación del fármaco de manera controlada debido a ciertas zonas en donde no se alcanzó a recubrir la tableta lo que hacía que inmediatamente entrara en contacto con la solución ácida y por lo tanto se disolviera rápidamente, por lo que se determinó que es necesario el uso de modificadores en la preparación de próximas formulaciones, como dióxido de titanio que faciliten la adherencia del quitosano en la tableta, así como su aspersión homogénea sobre la superficie de esta.

Palabras clave: Quitina, quitosano, forma farmacéutica de liberación modificada, recubrimiento

1. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, el quitosano es un compuesto que ha ganado importancia debido al aumento progresivo en el requerimiento de productos provenientes de la naturaleza y su empleo en sectores farmacéutico y cosmético. En cifras, el tamaño del mercado mundial de quitosano fue de 10,88 mil millones de dólares en 2022 y se prevé que se expandirá a una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) del 20,1 % de 2023 a 2030 (1). En la región de América Central y del Sur se tiene un crecimiento con una CAGR del 23,0 % proyectado por la creciente demanda de ingredientes naturales y orgánicos de la industria farmacéutica y cosmética durante el período de 2023 a 2030 (1).

La principal fuente de obtención del quitosano son los productos derivados del mar, más específicamente el exoesqueleto de camarón, de cangrejo y las plumas de calamar, así como langosta y langostino. El desecho de estos crustáceos provee la quitina que luego se deacetila para producir quitosano (2). La industria pesquera provee entre un 25 % y un 40 % de quitina de los camarones, siendo una fuente importante, y de la cáscara de cangrejo entre un 15 % y un 30 % de quitina (1;3).

La quitina, después de la celulosa, es el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza y es insoluble en agua a diferencia de su precursor quitosano que presenta una mejor solubilidad en medio acidulado lo que lo hace óptimo para la elaboración de medicamentos por su carácter liposoluble. Adicionalmente, no es tóxico y es biodegradable (3;4).

Otra fuente de quitosano que ha tomado relevancia y de la cual la quitina resulta ser el componente principal, es la pared celular de hongos como *Lentinula edodes*, que alcanza grados de deacetilación entre 70-90% y también de *Aspergillus niger*. Para estas especies el proceso de transformación a quitosano no requiere de un procesamiento tan fuerte para remover los minerales y, adicionalmente, se tiene la ventaja de que estos hongos presentan abundancia en diferentes regiones independiente de las estaciones del año (3).

El quitosano también se ha usado para la síntesis de hidrogeles con aplicaciones para la administración de fármacos (5;6), enfocado en la liberación controlada (7) entre otros usos farmacológicos.

Según la literatura, la mayoría de los trabajos enfocados en la obtención de quitina para FLM provienen de fuente de biomasa de crustáceos, encontrando poca información relacionada con la obtención a partir de hongos, por lo que se hace necesario aumentar dicho conocimiento y aportar estudios con esta fuente natural. Adicionalmente, en Latinoamérica se tiene una alta abundancia de material de origen natural, por su clima tropical, que puede ser empleado en la elaboración de compuestos para el caso de FLM, por lo que adquiere importancia generar una formulación con un material de origen natural. Por lo anterior, el presente trabajo está enfocado en evaluar un recubrimiento de quitosano obtenido a partir de una fuente natural, en una forma farmacéutica de liberación modificada (FLM) empleando un fármaco modelo.

Se plantea como pregunta de investigación la siguiente:

¿Cuál es la efectividad del quitosano obtenido de *Aspergillus niger* como potencial recubrimiento para una forma farmacéutica de liberación modificada (FLM)?

2. MARCO TEORICO

2.1 QUITINA

La quitina fue descubierta en el año 1811 por Henri Braconott, quien fue un francés con formación en química, quien realizó estudios con el hongo *Agaricus volvaceus* del cual extrajo un compuesto que al exponerlo en medio alcalino presentaba insolubilidad, dicha sustancia la llamó “fungina”. Años más tarde, en 1823, Auguste Odier descubrió en la cutícula de un escarabajo un compuesto parecido a la fungina la cual llamó quitina, esta palabra de origen griego significa “Chiton” o “envoltura”. Con los años la sustancia fue catalogada por otros personajes como Georg Städler quien estudiando los caparazones de cangrejo la clasificó como carbohidrato en 1859 y luego en 1876 el alemán Georg Ledderhose la describió como una glucosamina. La quitina es el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza (3;8).

2.2 QUITOSANO

Los polisacáridos son importantes polímeros naturales con gran potencial para aplicaciones biomédicas, seguros, no tóxicos, hidrofílicos y biodegradables, además pueden obtenerse de diversas fuentes en la naturaleza y de bajo costo (9). El quitosano es un polisacárido catiónico natural derivado de la desacetilación de la quitina, que es, después de la celulosa, el polímero más abundante que se encuentra en la naturaleza. Es un polímero hidrofílico, biocompatible y biodegradable con baja toxicidad (10).

Es un copolímero lineal de D-glucosamina unida a β -(1-4) y N-acetil-D-glucosamina (Figura 1) (11).

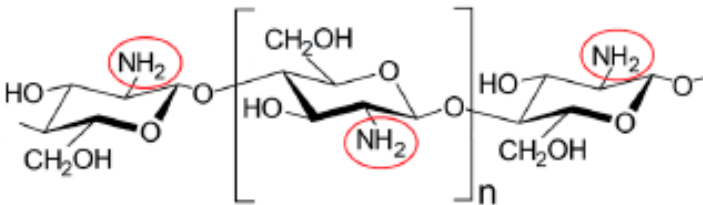


Figura 1. Estructura química del quitosano.

Químicamente hablando, el quitosano es un polisacárido compuesto de 2-amino-desoxi- β -D-glucano unido (1, 4), un derivado desacetilado de la quitina (Figura 2) (12).

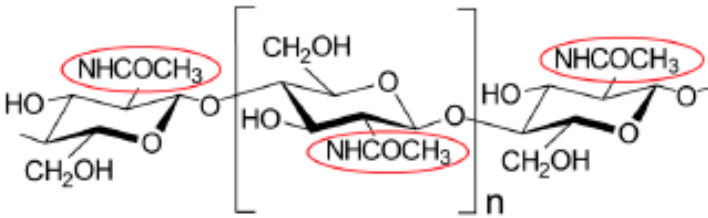


Figura 2. Estructura química de la quitina.

El Quitosano es de gran interés; debido a su facilidad para derivatizarse, debido a la presencia de numerosos grupos funcionales aminos e hidroxilos en su estructura polimérica, lo cual permite diversas modificaciones sobre su estructura. El Quitosano es un copolímero insoluble a pH neutro y básico debido a sus enlaces intra e intermoleculares formados por puentes de hidrógeno. Su forma cristalina y grupos amino protonables ($-\text{NH}_3^+$); permiten que sea soluble en soluciones acuosas ácidas, ya que se incrementa la polaridad y las repulsiones electrostáticas, lo que facilita la formación de asociaciones interpoliméricas (3).

2.2.1 Importancia

La administración oral de fármacos al colon es valiosa en el tratamiento de enfermedades del colon (colitis ulcerosa, enfermedad de Chron), mediante la cual se puede lograr una alta concentración local al liberarse en la región intestinal posterior, minimizando los efectos secundarios que se producen debido a una liberación del fármaco antes de lo esperado lo que puede ocurrir en el tracto gastrointestinal superior o la absorción sistémica innecesaria (13). Debido a sus propiedades bioadhesivas, el quitosano también ha recibido considerable atención en nuevos sistemas de administración de fármacos con el objetivo de mejorar la biodisponibilidad de los fármacos al prolongar el tiempo de residencia en el sitio de absorción (10). Tiene una baja toxicidad, buena biocompatibilidad y propiedades antimicrobianas, mucoadhesivas y que mejoran la absorción (14).

El quitosano posee la capacidad de abrir uniones epiteliales estrechas y tiene el estatus FDA-GRAS (Administración de Alimentos y Medicamentos, generalmente reconocido como seguro), lo que le ha permitido ser ampliamente aplicado en los campos biomédico y biotecnológico (11). En algunas aplicaciones recientes, el quitosano se utiliza a menudo en sistemas de administración de fármacos y transportadores de proteínas (15). También se utiliza para mejorar la absorción de compuestos bioactivos en el epitelio y se ha informado de su capacidad para proteger las estructuras en el ambiente gástrico (16).

2.2.2 Fuentes posibles

La Quitina es físicamente un compuesto blanco, duro e inelástico. Este biopolímero es sintetizado por una enorme cantidad de organismos vivos, entre los que se encuentran insectos (cutículas) y crustáceos (esqueletos), por ejemplo, cangrejos, camarones y langostas. La quitina también se extrae del exoesqueleto de especies de cefalópodos, como calamares, sepias y pulpos (6). También es extraído de las paredes celulares de los hongos, así como se encuentra en la matriz extracelular de una variedad de invertebrados incluidos insectos, poríferas (esponjas), platelmintos y nemátodos, acompañada principalmente de carbonato de calcio y proteínas en la mayoría de estos organismos (3).

Por otro lado, la extracción de quitosano a partir de hongos no requiere paso de desmineralización y el material de partida está disponible todo el año a un costo muy bajo. Se han sugerido como fuentes alternativas de quitosano los micelios de varios hongos, incluidos *Absidia coerulea*, *Absidia glauca*, *A. niger*, *Gongronella butleri*, *Mucor rouxii* y *Rhizopus oryzae* (7). Se han identificado cantidades suficientes de quitosano en *Mucor rouxii*, *phycomyces* y *saccharomyces* (6). También, se ha reportado la presencia de este polisacárido natural en bajas concentraciones en la pared celular de algunos hongos fitopatógenos como es el caso de *Fusarium solani*, *Rhizopus oryzae* y hongos del orden de los *Mucorales*, además es un importante componente en hongos filamentosos de la clase de los Zygomycetos (17).

2.3 *Aspergillus niger*

Se ha investigado la composición de la pared celular de *Aspergillus niger* en el cual se evidenció la presencia de seis azúcares: glucosa, galactosa, manosa, arabinosa, glucosamina y galactosamina, todos en la configuración D, excepto L-galactosa que puede estar presente en pequeñas cantidades. La pared se compone principalmente de carbohidratos neutros (73-83 %) y hexosamina (9-13 %), con cantidades más pequeñas de lípidos (2-7 %), proteínas (0,5-2,5 %) y fósforo (menos del 0,1 %) (18). En otro estudio; se determinó que entre los constituyentes de la pared celular de *Aspergillus niger*, la quitina constituye un 42 % y confirmaron que el contenido de quitosano de los hongos depende de la cepa, la edad del micelio, el medio y las condiciones de cultivo (19).

2.4 ADMINISTRACIÓN VIA ORAL

La administración oral es una de las vías preferidas y tradicionales para la administración de fármacos. En comparación con los vehículos de administración parenteral de fármacos, sus principales ventajas incluyen mayor seguridad, simplicidad, comodidad y cumplimiento por parte del paciente, lo que aumenta la eficacia terapéutica de los fármacos. La administración oral de fármacos también suprime el riesgo de transmisión de enfermedades, reduce los gastos y permite frecuencia de dosificación más flexible o controlada (11).

2.5 FORMA DE LIBERACION MODIFICADA (FLM)

Los sistemas de administración de fármacos de liberación modificada se desarrollan para modular la absorción aparente y/o alterar el sitio de liberación de fármacos para lograr objetivos clínicos específicos que no se pueden lograr con las formas farmacéuticas convencionales de liberación inmediata (20).

El objetivo de las formulaciones de liberación modificada es reducir las fluctuaciones de pico a valle de las concentraciones del fármaco y, en consecuencia, permitir una administración menos frecuente del mismo. Esto generalmente se logra reduciendo la tasa de liberación del fármaco y, por tanto, su tasa de absorción (21).

Más específicamente, las formas de dosificación oral sólida de liberación modificada incluyen productos de liberación prolongada y de liberación retardada. Una forma farmacéutica de liberación retardada libera un fármaco (o fármacos) en un momento distinto al inmediatamente posterior a la administración oral. En cambio, una forma de dosificación de liberación prolongada está formulada para que el fármaco esté disponible durante un período prolongado después de la ingestión, permitiendo así una reducción en la frecuencia de dosificación en comparación con un fármaco presentado como una forma de dosificación convencional (20).

Como puede observarse en la Figura 3, los productos de liberación retardada liberan el fármaco activo no inmediatamente, sino sólo algún tiempo después de la administración del fármaco.

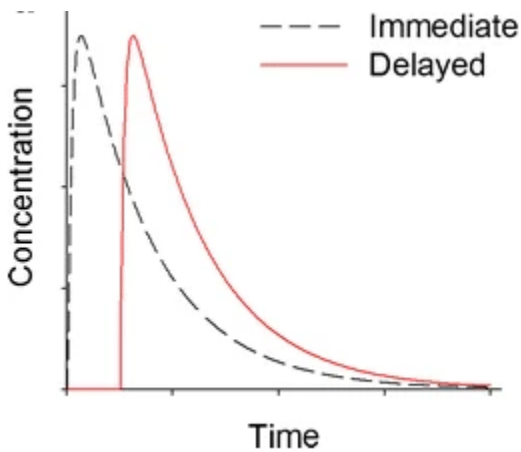


Figura 3. Concentraciones de formulaciones de liberación retardada e inmediata. El eje x corresponde al tiempo, el eje y corresponde a la concentración, la línea de color rojo corresponde a la liberación retardada y la línea punteada corresponde a la liberación inmediata.

Por otra parte, en la Figura 4 se muestra, la forma farmacéutica de liberación prolongada que libera el fármaco más lentamente que la forma farmacéutica de liberación inmediata y normalmente producen un período prolongado de concentración estable (20).

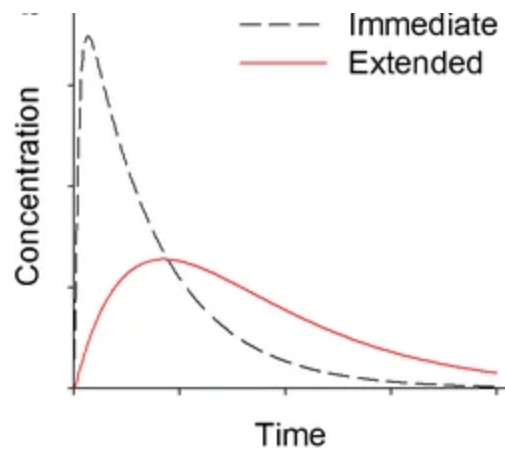


Figura 4. Concentraciones de formulaciones de liberación prolongada e inmediata. El eje x corresponde al tiempo, el eje y corresponde a la concentración, la línea de color rojo corresponde a la liberación extendida y la línea punteada corresponde a la liberación inmediata.

Las formulaciones de liberación modificada emplean diversas estrategias para la administración de fármacos mediante el uso de polímeros sensibles al pH y/o insolubles destinados a permitir la liberación del fármaco en los confines inferiores del intestino (22).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el quitosano obtenido de *Aspergillus niger* como potencial recubrimiento de una forma farmacéutica de liberación modificada (FLM).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar las propiedades fisicoquímicas y térmicas del material de recubrimiento de quitosano obtenido de *Aspergillus niger*.
2. Evaluar el uso del quitosano obtenido de la especie *Aspergillus niger* como recubrimiento de una forma farmacéutica de liberación modificada (FLM).
3. Determinar el perfil de liberación del principio activo modelo a partir de la forma farmacéutica objeto de estudio.

4. METODOLOGIA

4.1 DISEÑO METODOLOGICO

4.1.1 Tipo de estudio

- El presente es un estudio descriptivo de diseño experimental.
- El estudio en el tiempo es de tipo transversal.
- El estudio posee un manejo de variables de carácter correlacional.

4.1.2 Población y muestra-objeto de estudio

La muestra de estudio correspondiente a la materia prima de *A. niger* para la obtención del quitosano fue proporcionada por la empresa Sucroal S.A., como residuo de su proceso productivo, y el quitosano comercial usado como patrón fue proporcionado por el grupo de investigación de la facultad de ingeniería y ciencias aplicadas de la Universidad Icesi.

4.1.3 Variables de estudio

Las variables para estudiar corresponden a:

- Grado de deacetilación.
- Concentración disuelta del fármaco a partir del comprimido recubierto.
- Tiempo de disolución de comprimido recubierto.

4.1.4 Procedimiento de recolección de la información

Se aplicó un formato impreso de diseño personalizado para el diligenciamiento de la información requerida. Posteriormente se tabuló la información en hojas de cálculo de Excel para administrar la información y ser procesada más fácilmente para luego aplicar el tratamiento matemático.

4.1.5 Métodos para el control de la calidad de los datos

Se verificó el completo diligenciamiento de los datos primarios con el fin de garantizar la totalidad de la información evitando casillas en blanco o múltiple valoración de un mismo ítem.

4.1.6 Forma de presentación y divulgación de los resultados

Los resultados se presentaron en:

- Figuras.
- Tablas.
- Gráficas.
- Ecuaciones.
- Espectros y termogramas de análisis instrumental.

que expresen la información consolidada y sintetizada de los resultados.

4.2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

4.2.1 Obtención del quitosano

Se realizaron lavados al micelio entregado por la empresa Sucroal S.A. para el desarrollo del estudio, con el fin de eliminar los residuos y contaminantes adheridos provenientes del proceso productivo tales como azúcares, ácido cítrico y otras impurezas remanentes. Posteriormente, se realizó una hidrólisis alcalina del micelio con NaOH al 40 % p/v hasta ebullición durante cuatro horas. Luego se realiza un lavado con suficiente agua caliente sobre la pasta generada hasta que alcance un pH neutro. Después; se suspende la pasta obtenida en un volumen grande de agua y se acidifica con HCl concentrado en conjunto con agitación, se deja en reposo por cinco (5) días y la mezcla resultante se centrifuga alrededor de 4500 rpm por 10 min. Se retira el sobrenadante y se repite el proceso tres veces más, recolectando los extractos en un recipiente para nuevamente adicionar una solución de NaOH al 40 % p/v con el fin de precipitar el quitosano obtenido. Finalmente, la solución anterior se centrifuga y se filtra para recuperar el precipitado (quitosano) que posteriormente se lava y seca en un horno a una temperatura de 70 °C.

4.2.2 Realización de los ensayos instrumentales

El quitosano obtenido se caracterizó por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) para la respectiva identificación de los grupos funcionales que corroboren la identidad del compuesto. Se preparó una pastilla de KBr con una cantidad de quitosano en una proporción aproximada de 1:100 (quitosano:KBr) y el espectro se tomó en el rango de 4000 a 400 cm^{-1} . Los espectros se tomaron en un Espectrofotómetro IR marca Thermoscientific, modelo: Nicolet 6700.

Para los análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) se pesa 2 mg de quitosano seco, en crisoles de aluminio sellados herméticamente (denominada técnica del pin-hole). Las condiciones de operación de temperatura fueron de -50 °C a 250 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min y el flujo de nitrógeno inerte de 50 mL/min. Los ensayos se realizaron usando un crisol vacío sellado como referencia. Los resultados principales fueron la temperatura de inflexión y la temperatura pico de la humedad del compuesto (temperatura de fusión del agua) y de la transición vítrea del quitosano (T_g) y la entalpía de gelatinización. Los análisis se realizaron en un Calorímetro de Barrido diferencial marca TA Instruments, modelo: Q2000/2000-2740.

4.2.3 Obtención de tabletas recubiertas con la película de quitosano

4.2.3.1 Selección de tabletas sin recubrimiento

Se utilizaron tabletas de ibuprofeno sin recubrimiento elaboradas por granulación vía seca, de las prácticas de laboratorio de farmacia industrial finalizadas en 2024-1, las cuales se fabricaron empleando las diferentes etapas incluyendo el tamizaje de las materias primas y los procesos de mezcla, precompresión, molienda, regranulación, lubricación y compresión. Entre sus componentes se encuentran: Ibuprofeno 65 % como principio activo; Avicel PH 101y Avicel PH 102 como diluyentes, Croscarmelosa Sódica como desintegrante, estearato de magnesio como lubricante y dióxido de silicio como deslizante.

4.2.3.2 Preparación de la dispersión acuosa de recubrimiento del quitosano obtenido

Se prepararon diferentes dispersiones acuosas del quitosano extraído a las concentraciones en peso de: 0.3 %, 0.5 %, 0.7 %, 0.8 %, 1.0 %, 1.2 %, 1.5 % y 5.0 % bajo condiciones de pH ácido

(empleando ácido acético) teniendo en cuenta factores de interés en la formulación final como el grado de solubilidad y su viscosidad.

4.2.3.3 Aplicación de la dispersión acuosa de recubrimiento de quitosano obtenido sobre las tabletas de ibuprofeno

Se empleó un equipo de recubrimiento conformado por un bombo de recubrimiento, adecuado en su interior con un sistema de deflectores que ayudan a girar los núcleos para obtener una aplicación más homogénea de la dispersión acuosa de quitosano sobre las tabletas; rotor “ERWEKA®” #2; con sistema de regulador de giro y sistema de calentamiento de aire “ESTELAR®” con sus respectivas tuberías y línea de aire comprimido.

Cada una de las dispersiones acuosas se dosificó por aspersión con ayuda de una pistola aplicadora o miniaerógrafo con reservorio de 100 mL y presión de aire de 50 psi, graduando la presión de salida de la boquilla y apuntando al interior del bombo de recubrimiento que contiene los comprimidos del fármaco modelo.

4.2.4 Realización de los ensayos para las tabletas recubiertas

Se realizó la prueba de disolución a las tabletas recubiertas con la película de quitosano obtenido, basada en la monografía de la Farmacopea Americana, USP 46, capítulo <711>, con el equipo para seis vasos y agitación con paleta. Las condiciones del ensayo fueron:

- Medio de disolución ácido: HCl 0,1 N.
- Medio amortiguador: tampón en el rango de pH de 6,8.
- Volumen total del medio: 1000 mL.
- Temperatura: 37°C.
- Tiempo de medición: 2 horas en fase ácida y 45 minutos en fase amortiguadora.
- Revoluciones de la paleta: 75 rpm.

hasta obtener mínimo el 85 % del fármaco disuelto. Después; se tomaron alícuotas del medio de disolución en los tiempos establecidos, se filtraron y se determinó la concentración del fármaco a 244 nm por espectrometría UV-vis.

Finalmente, se determina el modelo de liberación incluyendo la cinética y concentración del fármaco con los datos recopilados del ensayo de disolución y se procede a realizar el respectivo tratamiento matemático.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 ENSAYO DE OBTENCIÓN DE QUITOSANO #1

Se realizó un montaje preliminar a pequeña escala con una masa de micelio seco menor (40 g) a la empleada comúnmente (100 g) para la extracción, manteniendo proporcionalmente las cantidades con NaOH 40 % p/v (200 mL) de acuerdo con la capacidad del balón empleado para la hidrólisis como se observa en la Figura 5. Al realizar la adición de la soda se observó que el micelio se convirtió en un tipo de pasta que no fue fácil de homogenizar y agitar con el magneto según la Figura 6. Luego se observó que el calentamiento directo con plancha empezó quemar la muestra en el fondo del balón siendo necesario implementar un sistema que homogenizara la temperatura en todo el balón por lo que se empleó un vaso de gran capacidad con aceite vegetal para mantener la temperatura constante de 100 °C suministrada al balón y se dejó el reflujo por 4 horas como se indican en las Figuras 7 y 8.



Figura 5. Masa del micelio seco.



Figura 6. Mezcla de micelio con soda.

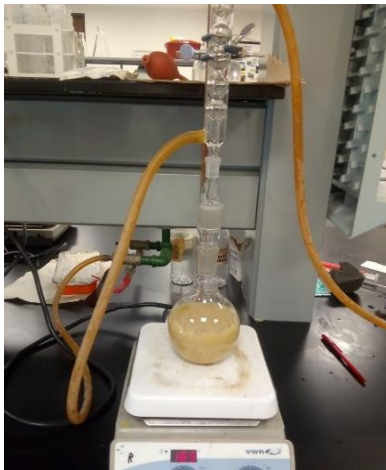


Figura 7. Montaje de extracción.



Figura 8. Montaje empleando aceite vegetal.

Terminado el proceso de hidrólisis se realizaron lavados a la pasta con agua tipo II para disminuir su pH mediante un sistema de filtración al vacío con ayuda de wypall como se evidencia en la Figura 9. Por último, la pasta lavada fue sumergida en 1280 mL de agua tipo II y se acidificó con 16 mL de HCl concentrado manteniendo las proporciones establecidas y dejándose en reposo de acuerdo con la Figura 10.



Figura 9. Lavado de la pasta.



Figura 10. Pasta en solución ácida.

Pasados dos días se observó un precipitado (de color claro en contraste con un color más oscuro esperado) el cual se procedió a filtrar al vacío para obtener el líquido (ver Figura 11). A este extracto se le agregó 50 mL soda al 40 % p/v para precipitar el quitosano, pero no se observó cambio alguno posiblemente debido a una hidrólisis incompleta por el montaje realizado en donde la agitación era lenta con el magneto y solo se realizaba en el fondo del balón como se observa en la Figura 12.

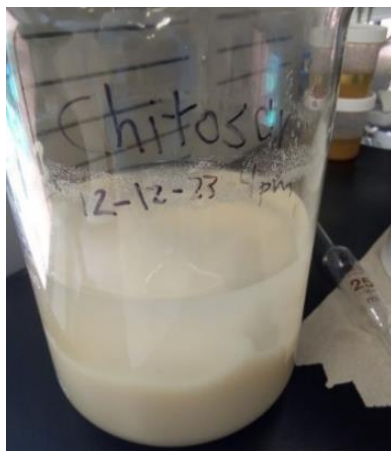


Figura 11. Pasta en solución ácida pasado dos días.



Figura 12. Extracto después de adicionar solución alcalina.

5.2 ENSAYO DE OBTENCIÓN DE QUITOSANO #2

Se realizó un montaje a gran escala con ayuda de una manta de calentamiento y un balón de 3 bocas de 3 L para una homogenización completa empleando 100 g de micelio seco tal como se indica en la Figura 13. Luego se adicionó la soda y se dejó reaccionar durante 4 horas según la Figura 14 y posteriormente se realizó un lavado inicial a la pasta contenida en el balón de 3 bocas como se evidencia en la Figura 15. Al siguiente día se continuó con los lavados de la pasta hasta aclaramiento de la solución filtrada y una disminución de pH entre 7-8 de acuerdo con la Figura 16.



Figura 13. Micelio seco #2 y montaje a gran escala para realizar hidrólisis.



Figura 14. Realización de hidrólisis alcalina.



Figura 15. Lavados preliminares de la pasta después de la hidrólisis.



Figura 16. Lavados posteriores de la pasta hasta disminución de pH.

Después se agregaron 3.2 L de agua a la pasta y 40 mL de HCl concentrado y se dejó en reposo 5 días. Se procedió a realizar la centrifugación de la pasta y se recolectó el sobrenadante. Las condiciones de operación de la centrifuga fueron 4500 rpm durante 10 minutos (ver Figura 17). Luego se adicionó 50 mL de NaOH al 40 % p/v al sobrenadante centrifugado para precipitar el quitosano colocándose la solución turbia y verificando el pH como se observa en la Figura 18.



Figura 17. Centrifugación de la solución de la pasta.



Figura 18. Adición de soda al extracto de la centrifugación.

Nuevamente se volvió a centrifugar la solución alcalina para separar el sólido y este último se esparció sobre una superficie de teflón para que eliminara la mayor humedad posible según la Figura 19. Se realizó el mismo proceso de alcalinización al líquido sobrenadante separado como una segunda extracción, aunque la cantidad recuperada no fue muy significativa como se indica en la Figura 20. Finalmente, se dejó secar el sólido a temperatura ambiente por 10 días y se recolectó todo el sólido cristalizado obtenido (ver Figura 21), se maceró y secó en horno a 70 °C (ver Figura 22) obteniéndose un peso final de 4,48g evidenciando así un rendimiento de 4,48 % de extracción de quitosano del micelio seco.

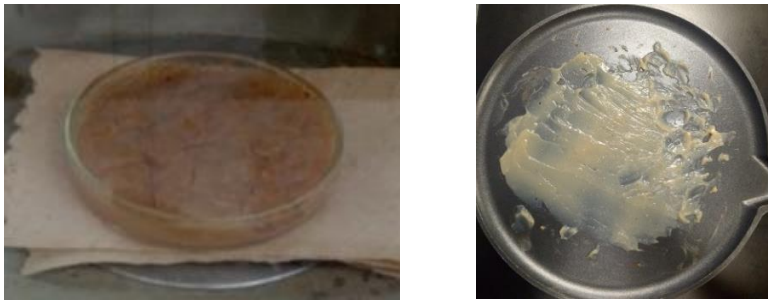


Figura 19. Sólido precipitado del extracto alcalino.



Figura 20. Segunda adición de soda al extracto y sólido precipitado después de centrifugación.



Figura 21. Quitosano obtenido después de secado a temperatura ambiente.



Figura 22. Quitosano obtenido macerado después de secado en horno.

5.3 ENSAYO DE OBTENCIÓN DE QUITOSANO #3

En esta tercera extracción a gran escala se procesaron 600 gramos de muestra para obtener aproximadamente 25 gramos de quitosano, por lo que se digitaron en 2 tandas 300 gramos del nuevo micelio seco debido a la capacidad del balón de 3 bocas para no saturar el sistema. Se procedió a realizar la extracción del quitosano similar al ensayo realizado anteriormente empleando la cantidad de reactivos proporcional a la cantidad de muestra empleada y se realizó el montaje respectivo como se muestra en la Figura 23. Después de ejecutar las 2 tandas de hidrólisis del micelio, se agrupó toda la pasta para realizar el lavado con agua destilada y filtrar con embudo Goach según la Figura 24.



Figura 23. Montaje a gran escala para hidrólisis alcalina de nuevo micelio.



Figura 24. Lavado de la pasta total obtenida de las dos tandas hidrolizadas.

La masa total digerida fue adicionada a un recipiente grande y se suspendió en 19,2 L de agua, se adicionó 240 mL de HCl concentrado y se dejó en reposo por 5 días de acuerdo con la Figura 25. Pasado los cinco días de reposo, se realizó la centrifugación de toda la mezcla por tandas de un litro debido a la capacidad de la centrífuga y se recuperaron los extractos en el mismo recipiente grande en donde posteriormente se adicionó el NaOH 40 % p/v para precipitar el quitosano. El líquido superior se removi6 con cuidado y la parte del fondo se trasvas6 a un nuevo recipiente para ayudar a la sedimentaci6n y posterior centrifugaci6n para recuperar el quitosano como se observa en la Figura 26.



Figura 25. Pasta en soluci6n 6cida dejada en reposo por cinco d6as.



Figura 26. Quitosano precipitado despu6s de la alcalinizaci6n.

Despu6s de realizar los pasos de centrifugaci6n para recuperar el s6lido y secarlo en el horno se obtuvo una masa final de 25,1807g (ver Figura 27) obteni6ndose un rendimiento de 4,20 % similar al porcentaje de rendimiento de la extracci6n anterior.



Figura 27. Pesos finales de la obtenci6n de quitosano #3.

5.4 CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO OBTENIDO

5.4.1 Grado de deacetilación (% DDA) de segunda extracción de quitosano

Se realizó el análisis de grado de deacetilación por titulación potenciométrica con NaOH 0,1 M a muestras de aproximadamente 0,1 g de quitosano obtenido como se evidencia en la Figura 28. Después de graficar los resultados y obtener los puntos de inflexión correspondientes de la primera derivada (Anexo A.1-A.3), se aplicó la Ecuación 1 para el resultado final (23).

$$\% \text{ DDA} = [16,1 * (V2 - V1) * C] / w \quad \text{Ecuación 1.}$$

Donde,

16,1= Constante que incluye el peso molecular del residuo de D-glucosamina en g/mol y el factor 100% y 1000 mL/L

V1 y V2= Volumen de titulante gastado en la titulación correspondiente al primer y segundo punto de inflexión, respectivamente, (mL)

C= concentración de titulante NaOH, (M)

w= peso de la muestra de quitosano obtenido, (g)

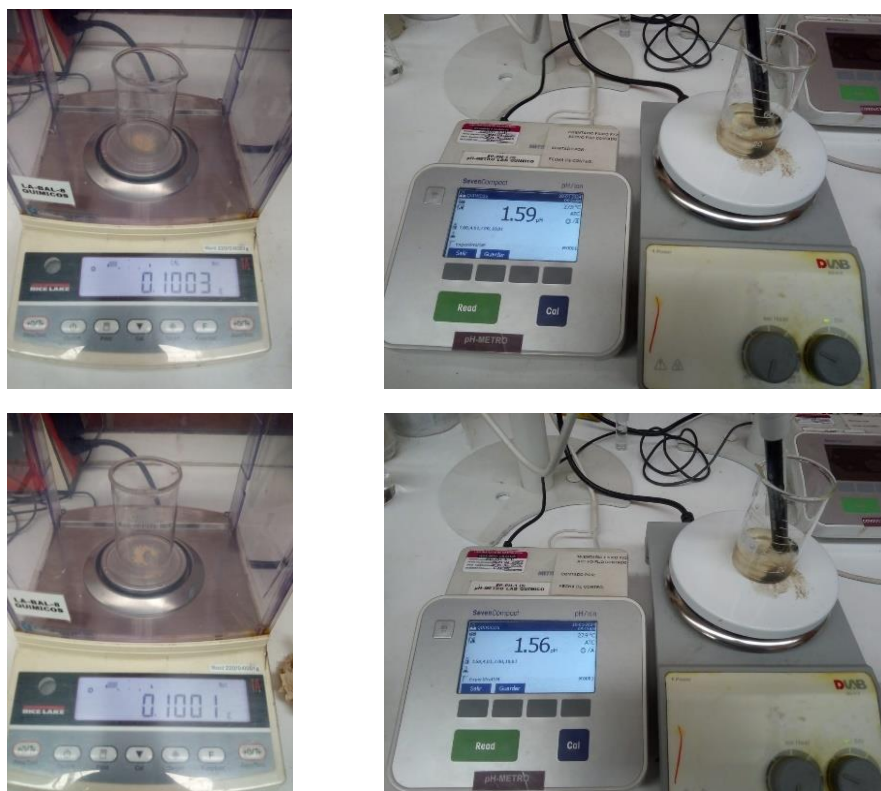


Figura 28. Titulación potenciométrica para determinar el % DDA de obtención de quitosano #2.

Los resultados obtenidos de las tres titulaciones realizadas se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Grado de deacetilación de quitosano obtenido.

Replica quitosano	DDA (%)
1	48,23
2	48,32
3	41,99
Promedio	46,18

El quitosano extraído indica un valor de % DDA menor en comparación con el quitosano comercial que presenta un grado de deacetilación mínimo de 75 % (Anexo A.9) y, de igual forma, con resultados obtenidos por algunos autores (Abdel-Gawad, 2017) quienes obtuvieron valores en un rango de 72.35 a 86.08 %. Estas diferencias pueden presentarse por modificación de ciertas variables como: el aumento de la concentración de álcali, el aumento del tiempo y la temperatura de incubación lo que puede ocasionar un aumento de % DDA del quitosano extraído (24). También hay que tener en cuenta que estos grados de deacetilación se obtuvieron principalmente de productos derivados del mar (Marinela, 2014) que son sometidos a tratamientos, las condiciones específicas para la extracción pueden influir en el grado de deacetilación obtenido. Por lo anterior, se infiere que los factores mencionados influyen en la obtención de un % DDA diferente ya que la fuente principal en este caso es el micelio de un hongo. También debe considerarse el tipo de cepa empleada y su forma de cultivo. Entre las variables principales de concentración de álcali, temperatura de ebullición y tiempo empleado en la digestión se optó por un tiempo de 4 horas debido a que ensayos previos demostraban valores de % DDA menores ya que como lo menciona Marinela “Tratamientos prolongados suelen provocar la degradación del polímero sin traducirse en un aumento sensible del grado de desacetilación” (25).

5.4.2 Grado de deacetilación (% DDA) de tercera extracción de quitosano

Se realizó nuevamente el análisis de grado de deacetilación por titulación potenciométrica al quitosano obtenido de la nueva extracción, como se evidencia en la Figura 29, de forma similar al realizado al quitosano de la segunda extracción.





Figura 29. Titulación potenciométrica para determinar el % DDA de obtención de quitosano #3.

Nuevamente se graficaron los resultados y se tomaron los puntos de inflexión correspondientes de la primera derivada (Anexo A.4-A.8) para calcular el % DDA de cada una de las réplicas analizadas obteniéndose los resultados mostrados en la Tabla 2.

Tabla 2. Grado de deacetilación de quitosano obtenido de la nueva extracción.

Replica quitosano	DDA (%)
1	39,30
2	39,71
3	39,64
4	39,82
5	48,21
Promedio	41,34

Se evidencia que el % DDA es menor en comparación con el % DDA de la segunda extracción (46,18 %) posiblemente por la cantidad mayor de muestra procesada y los volúmenes manejados lo que hace las trazas de impurezas aumenten y se presenten partículas de quitina en la muestra final lo que reduzca su grado de pureza.

5.4.3 Espectroscopia de Infrarrojo (FTIR) y calorimetría diferencial de barrido (DSC)

5.4.3.1 Espectroscopia de Infrarrojo (FTIR) de segunda extracción de quitosano

Los análisis instrumentales se realizaron con el fin de determinar la identidad del compuesto extraído, inicialmente el análisis de Infrarrojo (FTIR) por pastilla de KBr (Figura 30).



Figura 30. Equipo de Infrarrojo (FTIR) utilizado y muestra compactada en pastilla de KBr.

Para el caso del análisis de FTIR se verificó previamente el equipo con estándar de poliestireno (Anexo A.10 y A.11) y se procedió a realizar el análisis de la muestra de quitosano extraído en la pastilla de KBr con lo que se obtuvo el espectro de la Figura 31 y resalta los números de onda significativos de las bandas reveladas.

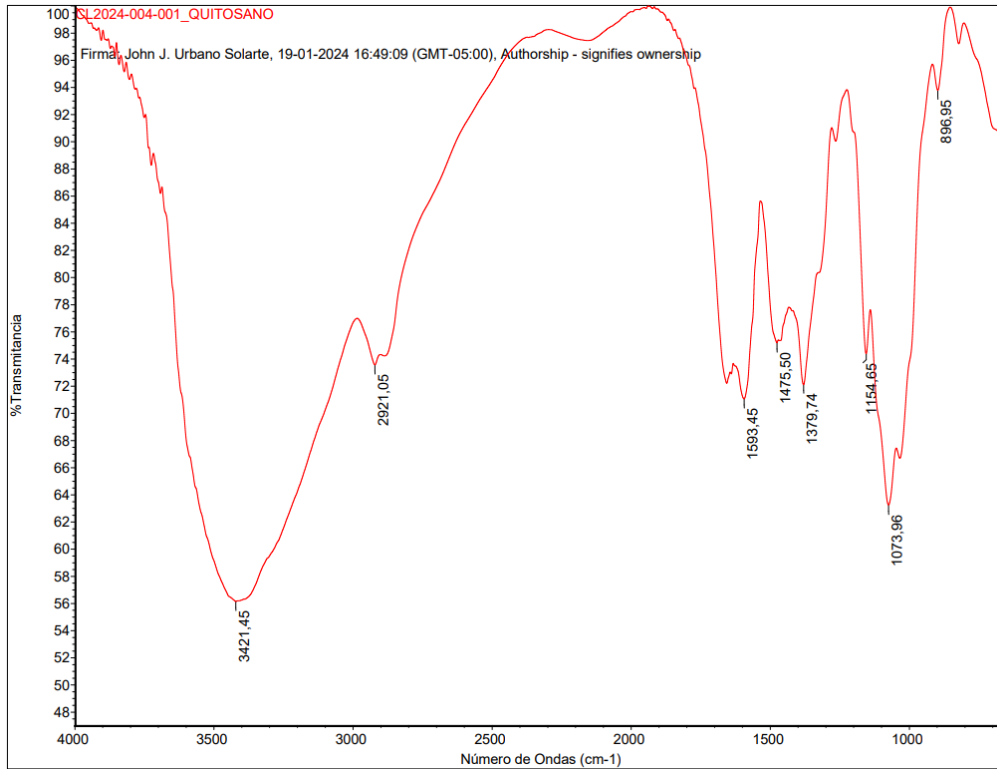


Figura 31. Espectro FTIR de extracción de quitosano #2.

Luego se comparó el espectro IR del quitosano extraído con el espectro del quitosano comercial de marca Sigma-Aldrich (Figura 32), observando que las bandas de los principales grupos funcionales coinciden (26).

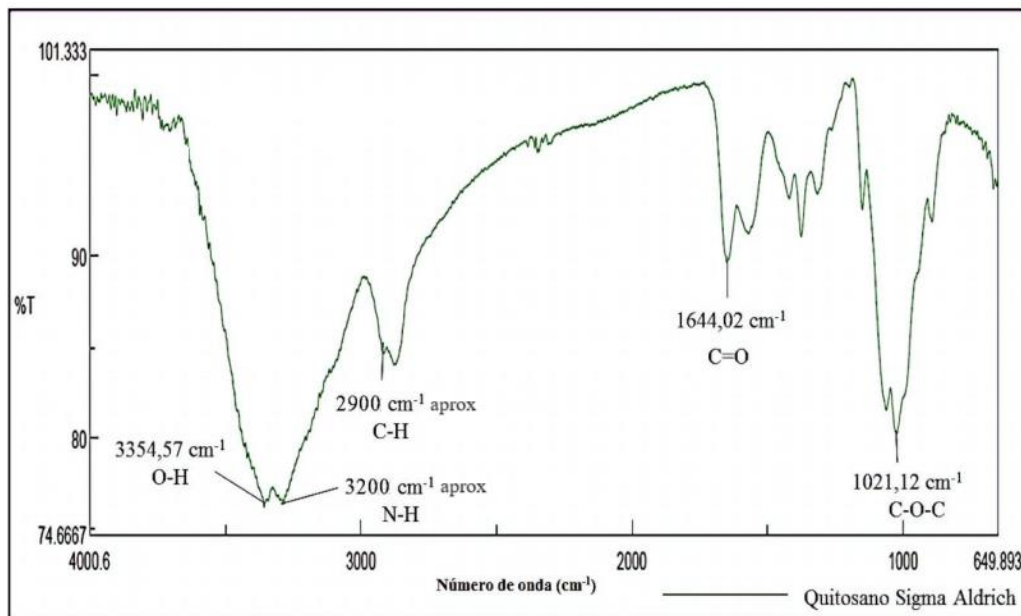


Figura 32. Espectro FTIR de quitosano comercial Sigma Aldrich.

Usando como referencia el espectro IR del quitosano comercial se observa una similitud en las bandas con respecto al quitosano extraído, que resaltan la tensión de grupos funcionales característicos del compuesto. De la comparación se evidencia la banda de tensión correspondiente al grupo O-H entre los 3400-3300 cm^{-1} (3421 cm^{-1} en la figura 31). Una señal más leve al lado derecho, cerca de los 3200 cm^{-1} corresponde a la banda de tensión del grupo N-H (rango de aminas primarias de 3450-3320 cm^{-1}), posiblemente desplazada por el solapamiento con la banda O-H y por la cantidad de grupos hidroxilos de la glucosamina, debido a que cuando el grupo hidroxilo está asociado en la molécula este genera una banda ancha en el rango de los 3550-3200 (27). Además, se observa la banda de tensión del grupo C-H cercano a los 2900 cm^{-1} (2921 cm^{-1} en la figura 31) que maneja un rango de 2950-2850 cm^{-1} . La banda de tensión del grupo C=O entre los 1650-1600 cm^{-1} que maneja un rango de 1900-1650 cm^{-1} y la banda de tensión del grupo C-O entre los 1100-1050 cm^{-1} (1073 cm^{-1} en la figura 31) que maneja un rango de 1085-1050 cm^{-1} para los enlaces R-OH cíclicos de 6 miembros (27). Las bandas del IR del quitosano extraído demuestran ciertos desplazamientos posiblemente por la pureza del material debido a desviaciones en el procesamiento y posibles trazas de quitina que solapan dichas bandas. Por último, se observa la tensión del grupo C-N entre 1400-1350 cm^{-1} (1379 cm^{-1} en la figura 31) que maneja un rango de 1340-1260 cm^{-1} y la vibración de deformación del grupo N-H entre los 1600-1550 cm^{-1} (1593 cm^{-1} en la figura 31), que para el caso de aminas primarias maneja un rango de 1640-1560 cm^{-1} y presenta una flexión en tijera fuerte (27).

5.4.3.2 Espectroscopia de Infrarrojo (FTIR) de tercera extracción de quitosano

Se realizó nuevamente el análisis de Infrarrojo (FTIR) por pastilla de KBr al quitosano extraído #3 y se obtuvo el espectro evidenciado en el anexo A.12. De este espectro, se elaboró la Tabla 3 que resume los números de onda significativos de las bandas representativas con su respectiva intensidad (% Transmitancia menor a 73 %) y los números de onda de las bandas del quitosano de la segunda extracción.

Tabla 3. Número de onda de bandas características.

Quitosano extracción #3		Quitosano extracción #2
Posición (cm^{-1})	Intensidad (% T)	Posición (cm^{-1})
1081,46	60,004	1073,96
1153,94	72,757	1154,65
1441,81	61,580	1475,70
1561,71	65,869	1593,45
2922,25	70,923	2921,05
3423,96	54,130	3421,45

Como se puede observar, no se evidencia una gran diferencia entre los números de onda de ambas extracciones siendo muy cercanos con lo que se asume que en ambos casos el material analizado

tiene un grado de similitud considerable y así mismo una similitud con el espectro del quitosano comercial de marca Sigma-Aldrich.

5.4.3.3 calorimetría diferencial de barrido (DSC) de segunda extracción de quitosano

Se continuó la caracterización con la realización de la prueba de calorimetría diferencial de barrido (DSC) como se muestra en la Figura 33, verificando previamente el equipo con estándar de indio de lote BV297605 (Anexo A.13 y A.14).

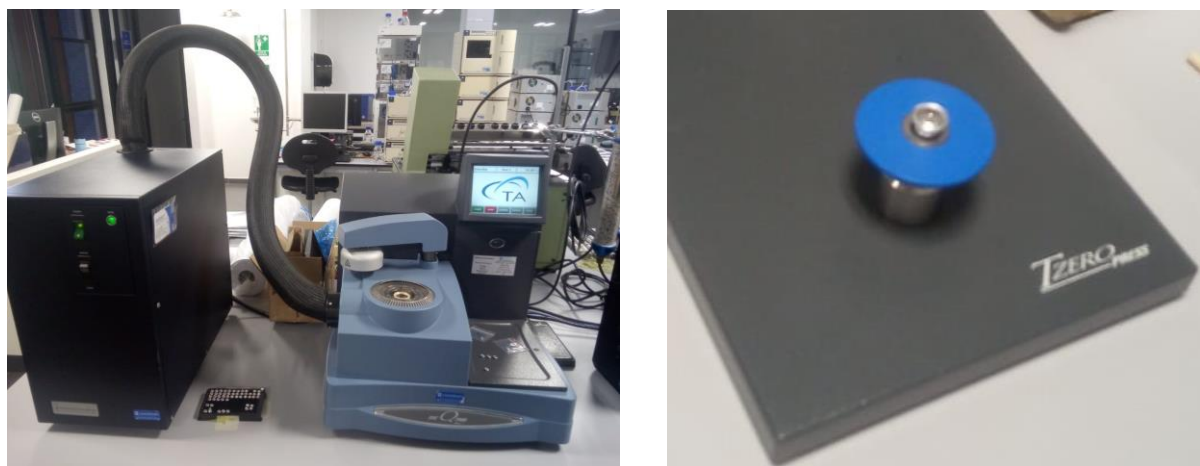


Figura 33. Equipo de DSC utilizado y muestra acondicionada en el pinhole.

El termograma del quitosano obtenido en la segunda extracción no fue muy claro debido a que la muestra presentó humedad por falta de secado antes de la realización del análisis y así poder determinar la temperatura de transición vítrea (T_g) característica después de los $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ (28).

5.4.3.4 calorimetría diferencial de barrido (DSC) de tercera extracción de quitosano

Posteriormente, se realizó el análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) a la muestra de quitosano de la tercera extracción con lo que se logró como resultado el termograma de la Figura 34. A diferencia del termograma del quitosano de la segunda extracción, el quitosano de la tercera extracción también presentó humedad, pero en este caso se observó que la muestra pudo alcanzar la temperatura de transición vítrea (T_g) esperada. En principio se alcanza una temperatura de inflexión de $205,15\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una temperatura pico de $225,53\text{ }^{\circ}\text{C}$, adicionalmente la Entalpia fue de $10,66\text{ J/g}$ generando una señal endotérmica. Este intervalo corto de temperaturas denominado temperatura de transición vítrea (T_g), es característica en la transición de polímeros como los plásticos, ya que al enfriarse pueden pasar de ser flexibles a rígidos y esto puede observarse sólo en las regiones amorfas (29). La razón de que el quitosano presente esta T_g y no una temperatura de fusión (T_m) es que su estructura es completamente amorfa. Los sólidos cristalinos poseen en

su estructura cadenas rígidas que no pueden ejecutar movimientos rotacionales debido a la fuerte interacción que hay entre ellas y a la falta de un volumen libre, esto atribuyéndose a factores como la rigidez en la cadena, las fuerzas intermoleculares, la separación entre las cadenas, los sustituyentes voluminosos, el entrecruzamiento y el peso molecular (29). En la Figura 34 se observa la caída o inflexión a partir de los 205 °C pasando así la región vítrea, la cual se presenta a temperaturas menores que la T_g, a la región visco-elástica por encima de la T_g, ocurriendo la transición del estado rígido al flexible y al enfriarse ocurre el caso contrario ya que pasa de flexible a rígido (29). Conforme a lo anterior se infiere que el resultado obtenido es conforme debido a que la T_g es cercana a la reportada en la literatura para el quitosano (200 °C).

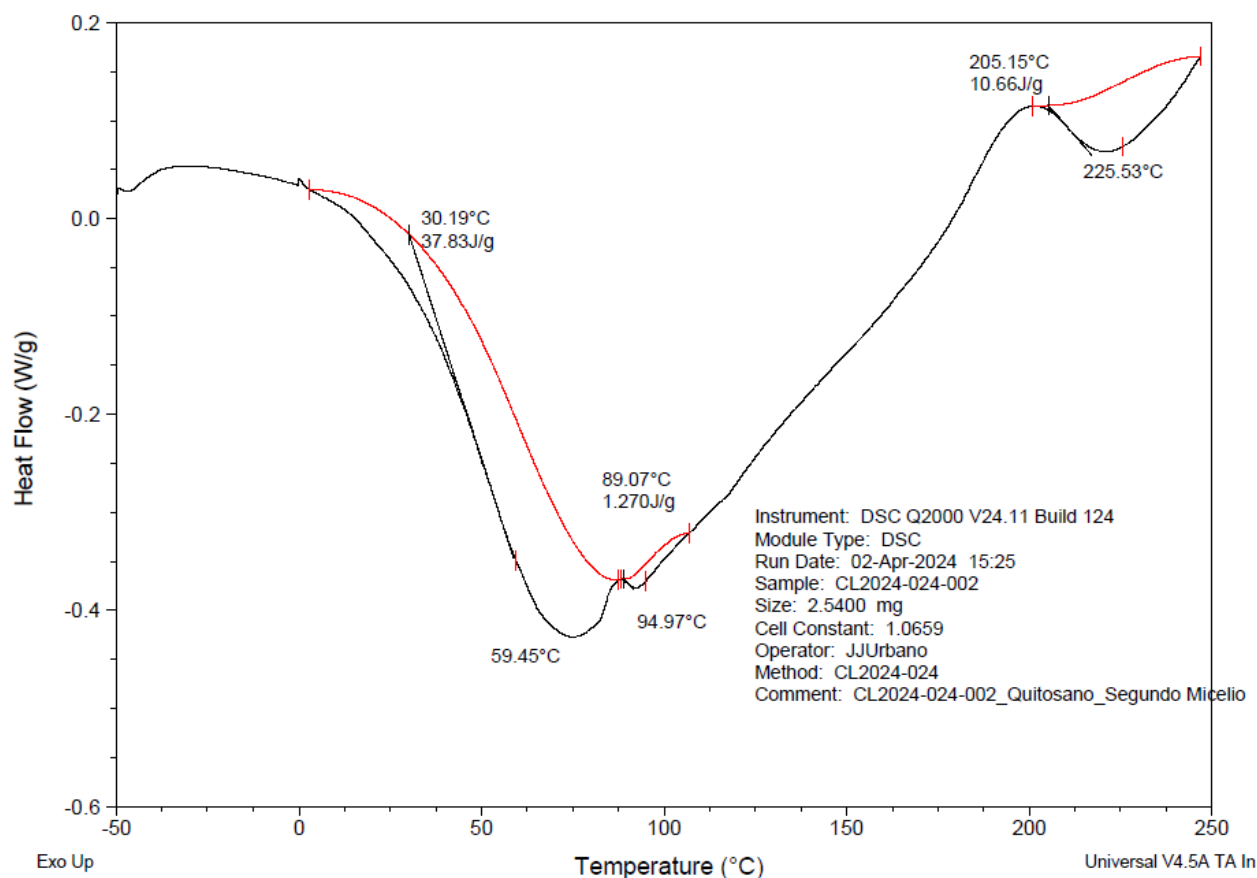


Figura 34. Termograma de DSC de extracción de quitosano #3.

5.5 ENSAYO DE RECUBRIMIENTO CON QUITOSANO COMERCIAL

Se realizó un diseño de siete tratamientos en los que se evaluó la solubilidad de quitosano comercial a diferentes concentraciones en peso en dos solventes (ácido clorhídrico y ácido acético) como se observa en la Tabla 4.

Tabla 4. Pesos de los componentes de cada tratamiento preparado con quitosano comercial.

Nombre del material	Cantidad (g)
Quitosano comercial	0,5 / 1,0 / 2,0 / 3,0
HCl concentrado	1,0
Agua tipo II	c.s.p.
Nombre del material	Cantidad (g)
Quitosano comercial	0,5 / 1,0 / 2,0
Ácido acético	1,0
Agua tipo II	c.s.p.

La preparación de los tratamientos puede evidenciarse en las Figuras 35 y 36.



Figura 35. Pesos de quitosano comercial empleados en los tratamientos.

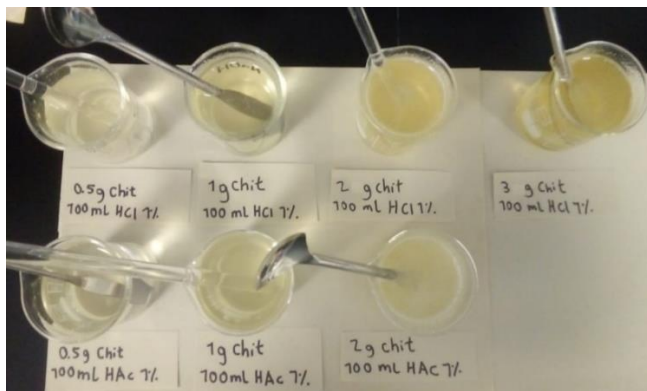


Figura 36. Tratamientos preparados en ácido clorhídrico (HCl) 1 % y ácido acético (HAc) 1 %.

Se ensambló el equipo de recubrimiento con el que se realizaron las pruebas de aspersión con el fin de identificar que concentración de los tratamientos preparados tendría mejor desempeño. El equipo se compone de bombo de recubrimiento (el cual fue acondicionado en su interior para el movimiento homogéneo de los núcleos), aerógrafo, rotor con módulo de operación, sistema de calentamiento y enfriamiento de aire y salida de aire a presión (el cual fue acondicionado con un manómetro para conocer la presión de salida del aire) como se indica en la Figura 37.

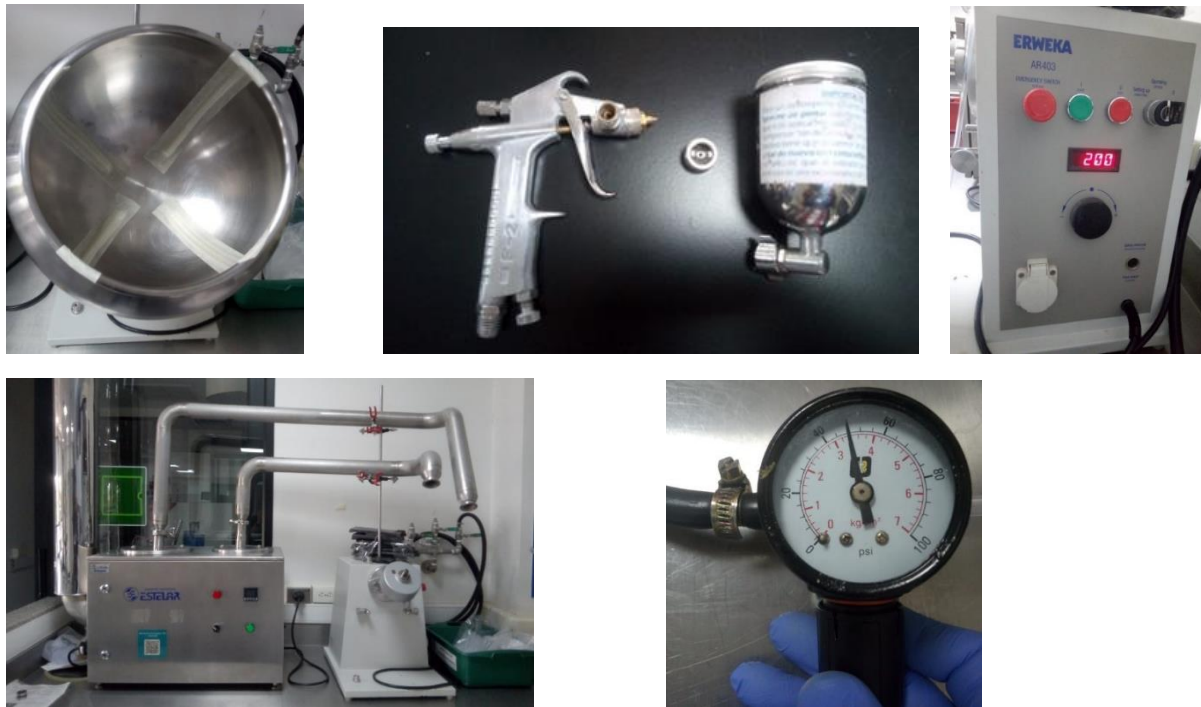


Figura 37. Partes del equipo de recubrimiento: bombo de recubrimiento con sistema de deflectores, miniaerógrafo, rotor “ERWEKA®” #2, sistema de calentamiento de aire “ESTELAR®” con sus respectivas tuberías y línea de aire comprimido regulado a 50 psi.

Al finalizar el ensamblado de las partes se obtuvo el equipo de recubrimiento como se muestra en la Figura 38.



Figura 38. equipo de recubrimiento ensamblado.

La prueba de aspersión se inició ensayando cada solución de tratamiento preparado para evidenciar una posible obstrucción, pero todos los tratamientos pudieron ser aspersados. Por consiguiente, se decidió trabajar con el tratamiento de quitosano comercial de 2 % de concentración disuelto en ácido acético debido a que presentaba una menor viscosidad y mejor fluidez en comparación con el tratamiento de quitosano comercial de 3 % de concentración, para recubrir 50,91 g de unos núcleos de ibuprofeno como fármaco modelo como se indica en la Figura 39. Las condiciones de operación del equipo de recubrimiento se encuentran en la Tabla 5. Después de aplicada la solución preparada de quitosano comercial de 2% con HAC al 1 %, los núcleos ganaron un peso de aproximadamente 1 gramo (51,93 g de peso final) según la Figura 40.



Figura 39. Aspersión de tratamiento de quitosano comercial de 2 % de concentración en HAC 1 % sobre núcleos de ibuprofeno y secado a 45°C.

Tabla 5. Condiciones de operación de bombo de recubrimiento

Variable	Valor de referencia	Valor experimental
Temperatura de entrada	45±5 °C	45°C
Velocidad de giro	35-40 rpm	35 rpm
Presión de rocío	50 psi	50 psi
Distancia entre pistola y comprimidos	30 cm	30 cm
Angulo de la pistola	45°	45°

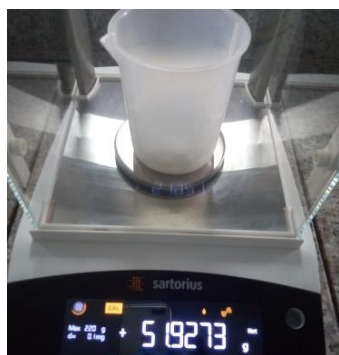


Figura 40. Peso final de núcleos recubiertos.

Sin embargo, se evidenciaron problemas de adherencia de los núcleos en el bombo de recubrimiento después de 3 minutos de rocío. En la Figura 41 se aprecia una superficie grumosa posiblemente debido a la viscosidad de la solución de quitosano aspersada ya que el vehículo de la preparación no alcanzaba a eliminarse después de la aplicación generando la apariencia húmeda y también un deterioro en la capa externa de los núcleos que se puede atribuir a la interacción de la solución ácida aspersada con los excipientes empleados en la capa externa del fármaco.



Figura 41. Adhesión de las tabletas en el bombo de recubrimiento y efecto de la solución aplicada en los núcleos.

5.6 ENSAYO DE RECUBRIMIENTO CON QUITOSANO DE EXTRACCIÓN #3

Se prepararon cuatro formulaciones adicionales con el quitosano de la extracción #3, cada una con diferentes tratamientos (ver Tablas 6 a 9) y adicionando a cada formulación un plastificante para modificar y mejorar la elasticidad de la película, una de las propiedades físicas importantes a tener en cuenta para el recubrimiento. El plastificante hace más flexible y aumenta la resistencia de la película (30). El plastificante empleado fue el polietilenglicol 400 (PEG 400) a una concentración en peso del 15 %.

5.6.1 Preparación de los tratamientos de la formulación #2

Para la formulación #2, además del PEG 400, se empleó ácido acético glacial al 1,5 % para ayudar a la disolución del quitosano y se empleó como vehículo agua tipo II. Las concentraciones en peso incrementales de quitosano para elaborar cada uno de los tratamientos se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Pesos de los componentes de cada tratamiento preparado con quitosano obtenido en la formulación #2.

Nombre del material	Cantidad (g) del material					
	TTO #1	TTO #2	TTO #3	TTO #4	TTO #5	TTO #6
Quitosano	0,3	0,5	0,7	1,0	1,2	1,5
Polietilenoglicol 400	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Ácido acético	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Agua tipo II	c.s.p.	c.s.p.	c.s.p.	c.s.p.	c.s.p.	c.s.p.

Al realizar la aplicación de cada uno de los tratamientos sobre las tabletas de ibuprofeno se evidenció que la solución las desintegraba reduciendo gran parte de la tableta y quedando en forma de polvo en el interior del bombo de recubrimiento como se muestra en la Figura 42. Debido a lo anterior, se asume que la tableta elaborada por vía seca no es apta para ser recubierta con estas soluciones. El ácido acético puede interactuar con los excipientes de la tableta como por ejemplo el Avicel PH 101 o el Avicel PH 102 que son celulosas y por ende el ácido puede hidrolizarlas y con ello romper los enlaces de las cadenas.



Figura 42. Desintegración de las tabletas de ibuprofeno.

5.6.2 Preparación de los tratamientos de la formulación #3

Para la formulación #3 se redujo la cantidad de ácido acético glacial al 0,5 % debido a que se recomienda este porcentaje, al ser un compuesto Clase 3 que lo ubica como disolvente con bajo potencial tóxico de acuerdo con la “USP <467> Disolventes residuales” (31). También, se eliminó el tratamiento con 0,3 % de quitosano y se reemplazaron los tratamientos con 0,7 % y 1,0 % por uno de 0,8 %, disminuyendo el número de tratamientos de seis a cuatro como se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Pesos de los componentes de cada tratamiento preparado con quitosano obtenido en la formulación #3.

Nombre del material	Cantidad (g) del material			
	TTO #1	TTO #2	TTO #3	TTO #4
Quitosano	0,5	0,8	1,2	1,5
Polietilenoglicol 400	15,0	15,0	15,0	15,0
Ácido acético	0,5	0,5	0,5	0,5
Agua tipo II	c.s.p.	c.s.p.	c.s.p.	c.s.p.

Para evitar que las nuevas soluciones desintegraran las tabletas, como ocurrió con el caso anterior, se cambiaron las tabletas de ibuprofeno vía seca por tabletas de acetaminofén vía húmeda y al realizar la aplicación de cada uno de los tratamientos sobre las nuevas tabletas se evidenció que ya no ocurría desintegración; sin embargo, se observó que las soluciones generaban hinchamiento y fragmentación de las tabletas como se observa en la Figura 43.



Figura 43. Tabletillas de acetaminofén con fragmentación.

5.6.3 Preparación de los tratamientos de la formulación #4

Para la formulación #4 se cambió el vehículo de agua tipo II por Alcohol etílico 70 % v/v para facilitar la evaporación del solvente al momento de la aplicación de la solución en el interior del bombo de recubrimiento y con ello permitir que el quitosano se pudiera adherir en mayor grado a la tableta. Para este caso se preparó solo un tratamiento a una concentración mayor de quitosano con el fin de que la solución tuviera mayor cantidad de polímero para poderse adherir a la tableta y al mismo tiempo procurando que no se obstruyera la boquilla del miniaerófono al momento de aspersarla. La formulación #4 se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8. Pesos de los componentes del tratamiento preparado con quitosano obtenido en la formulación #4.

Nombre del material	Cantidad (g) del material
Quitosano	5,0
Polietilenoglicol 400	15,0
Ácido acético	0,5
Alcohol etílico 70% v/v	c.s.p.

Al realizar la aplicación del tratamiento se observó mejoría con respecto a los tratamientos anteriores, ya que no se generaba hinchamiento y tampoco fractura de las tabletas de acetaminofén. Adicionalmente, se observó que la superficie de la tableta empezaba a mostrar más material de recubrimiento adherido a su superficie con lo que se asume que la modificación de la concentración de polímero y el cambio de vehículo favorecieron en la obtención de dichos resultados tal como se muestra en la Figura 44.



Figura 44. Tabletillas de acetaminofén con quitosano en la superficie.

5.6.4 Preparación de los tratamientos de la formulación #5

Para la formulación #5 se preparó un tratamiento con el material remanente de los casi 25 gramos que se habían extraído y se emplearon nuevamente 5 gramos del polímero. Adicionalmente, se incluyeron dos excipientes que favorecen la aplicación de la solución de recubrimiento los cuales son: el dióxido de titanio coloidal (Aerosil) y el talco. También se reemplazó el alcohol etílico por uno de concentración 96 % v/v (ver Tabla 9). Esta formulación presentó una consistencia más uniforme evidenciando las partículas de quitosano suspendidas en la mezcla, evitando así la sedimentación y favoreciendo la aplicación del tratamiento debido a que se eliminaba el inconveniente del taponamiento de la boquilla del miniaerófago como se muestra en la Figura 45.

Tabla 9. Pesos de los componentes de cada tratamiento preparado con quitosano obtenido en la formulación #5.

Nombre del material	Cantidad (g) del material
Quitosano	5,0
Polietilenoglicol 400	15,0
Dióxido de titanio	4,0
Talco	3,0
Alcohol etílico 96% v/v	c.s.p.



Figura 45. Tratamiento de la formulación #5.

Después de la aspersión de la mezcla en las tabletas se observó que el polímero quedaba sobre la superficie en mayor grado, comparado con los tratamientos anteriores, esto ayudado por los excipientes adicionados y el vehículo que estaba compuesto por una menor cantidad de agua (de 70 % a 96 % v/v) aunque la cantidad de la mezcla no fue suficiente para recubrir la totalidad de la tableta como se observa en la Figura 46.



Figura 46. Tabletillas de acetaminofén con mayor cantidad de quitosano en la superficie.

De las cuatro formulaciones preparadas se puede inferir que la modificación en el vehículo empleado de agua tipo II a alcohol etílico, mejora la forma de aspersion en la boquilla del miniaerógrafo y facilita la interacción del quitosano y la superficie de la tableta. Así mismo el uso de excipientes moduladores en la formulación también facilita la adhesión del quitosano en la tableta en un mayor grado y proporciona a la formulación propiedades contra la sedimentación para que el quitosano se mantenga suspendido y no sedimente favoreciendo así la aspersion. Por lo tanto, la formulación #5 provee mejores resultados en comparación con las otras formulaciones preparadas y es recomendado tomarla como punto de partida para perfeccionar la película final sobre la tableta, facilitando el cubrimiento total de la superficie de la tableta, mejorando su adhesión y finalmente definiendo su apariencia en una capa más lisa y agradable.

5.7 ENSAYO DE PRUEBA DE DISOLUCIÓN CON QUITOSANO DE EXTRACCIÓN #3

Se preparó el medio de disolución para el total de los vasos del equipo y se acondicionó el líquido a 37 °C antes de iniciar la prueba verificando cada uno de los vasos como se evidencia en la Figura 47.



Figura 47. Verificación de la temperatura de la solución en cada uno de los vasos del disolutor.

Después se programó el equipo con las condiciones mostradas en la Tabla 10 y como se observa en la Figura 48.

Tabla 10. Condiciones de operación de equipo de disolución.

Variable	Valor de referencia
Temperatura	37 ± 0,5 °C
Velocidad de giro	75 rpm
Tiempo total	2:45 h



Figura 48. Condiciones de operación de equipo de disolución.

Al realizar la inmersión de las tabletas recubiertas con la formulación #5 en cada uno de los vasos del disolutor, se observó que cada tableta se disolvía en menos de un minuto despegándose el material de recubrimiento y quedando por separado en la solución. Se evidenció que el líquido interactuaba por las zonas en donde no se alcanzó a recubrir la tableta lo que hacía que inmediatamente la tableta entrara en contacto con la solución y por lo tanto se disolviera rápidamente, tal como se observa en la Figura 49.



Figura 49. Tabletas disueltas en los vasos del equipo de disolución.

La prueba de disolución no arrojó los resultados esperados debido a que las tabletas estaban parcialmente recubiertas y quedaron ciertas zonas descubiertas que entraron en contacto con la solución ácida inmediatamente iniciaba el proceso de disolución y por lo tanto la tableta se disolvía

rápida. Como no pudo elaborarse una mayor cantidad de solución de recubrimiento, ya que la formulación preparada fue de 100 mL, esta cantidad no fue suficiente para realizar un recubrimiento completo de las tabletas dejando partes expuestas. Para un próximo estudio se recomienda elaborar una mayor cantidad de la solución de recubrimiento y abastecer el reservorio del miniaerógrafo cuando esté próximo a terminarse para no interrumpir el proceso de aspersión. De esta forma se asegura una cantidad suficiente de solución que recubra la totalidad de las tabletas dentro del bombo de recubrimiento. Por consiguiente, al no tener resultados de absorbancia de la prueba de disolución por la rápida interacción de las tabletas recubiertas por la fase ácida del medio de liberación, no pudo realizarse una estimación del modelo cinético de liberación.

6. CONCLUSIONES

El grado de deacetilación de 41.34 % obtenido de la última extracción indica que el procesamiento del micelio puede verse afectado por diferentes variables tales como: la concentración de álcali, el aumento del tiempo y la temperatura de la hidrólisis, así como la cantidad de muestra procesada y los volúmenes manejados, aumentando las impurezas lo que pudo desembocar en % DDA por debajo del grado de deacetilación del quitosano comercial.

Los análisis instrumentales demostraron una similitud en las bandas de los grupos funcionales característicos del quitosano en el espectro FTIR y una Tg por encima de los 200 °C (225 °C) indicando que el material obtenido corresponde a quitosano.

Se evidencia que la aplicación de la solución de recubrimiento es más favorable en tabletas fabricadas por granulación vía húmeda en comparación con tabletas vía seca. La solución desintegra la parte externa de la tableta fabricada por vía seca debido a la interacción del ácido acético con el excipiente a base de celulosa.

Se recomienda emplear una baja cantidad (máximo 0,5 %) de ácido acético por lo establecido en la “USP <467> solventes residuales”, dicha cantidad está determinada bajo estudios de toxicidad en personas.

Finalmente, el uso de excipientes en la preparación de la solución de recubrimiento mejora las condiciones de la formulación distribuyendo las partículas de forma homogénea y facilitando la aplicación, evitando obstrucción y taponamiento de la boquilla de la pistola.

Con base en lo anterior, se recomienda para futuras formulaciones el empleo de modificadores como el dióxido de titanio o similares que faciliten la adherencia del quitosano en la tableta, así como una aspersión homogénea sobre la superficie de esta.

7. AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento especial para las siguientes personas que dieron un aporte significativo e importante en la realización de este proyecto:

- Nora Elena Valderruten – Docente Universidad Icesi
- Carolina Del Pilar Mora – Docente Universidad Icesi
- Elizabeth Osorio – Docente Universidad Icesi
- Hernando del Portillo – Colaborador Tecnoquímicas
- Juan Fernando Pinillos – Docente Universidad Icesi
- Claudia Jimena Campo – Coordinadora de laboratorios Universidad Icesi
- Jhony Andrés Bolaños – Colaborador laboratorios Universidad Icesi
- María Alejandra Arboleda – Coordinadora de laboratorios Universidad Icesi
- John Jairo Urbano – Colaborador de laboratorios Universidad Icesi
- Manuel Chaur – Docente Universidad del Valle
- Bryan Alexis Sanmiguel – Estudiante Universidad del Valle
- Ana Lucía Gómez – Colaboradora Sucroal S.A.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Research and Markets. Chitosan Market Size, Share & Trends Analysis Report By Application (Pharmaceutical, Water Treatment, Cosmetics, Biomedical, Food & Beverage), By Region, And Segment Forecasts, 2023 – 2030. (2022).
2. Junceda-Mena, I., García-Junceda, E., Revuelta, J. From the problem to the solution: Chitosan valorization cycle. *Carbohydrate Polymers*. **309**, 120674. (2023).
3. Romero-Serrano, A. & Pereira, J. Review: Chitosan, a versatile biomaterial. State of the art from its obtaining to its multiple applications. *Revista Ingenieria UC*. **27**(2), 118-135. (2020).
4. Espinosa-Cavazos, K.G., Sáenz-Galindo, A. & Castañeda-Facio, A.O. Películas de quitosano propiedades y aplicaciones. *RACO*. **77**(591). (2020).
5. Ahmadi, F., Oveisi, Z., Mohammadi, S. & Amoozgar, Z. Chitosan based hydrogels: characteristics and pharmaceutical applications. *Research in Pharmaceutical Sciences*. **10**(1), 1-16. (2015).
6. Hamed, H., Moradi, S., Hudson, S. & Tonelli, A. Chitosan based hydrogels and their applications for drug delivery in wound dressings: A review. *Carbohydrate Polymers*. **199**, 445–460. (2018).
7. Muñoz, G., Valencia, C., Valderruten, N., Ruiz-Durántez, E. & Zuluaga, F. Extraction of chitosan from *Aspergillus niger* mycelium and synthesis of hydrogels for controlled release of betahistine. *Reactive & Functional Polymers*. **91-92**, 1–10. (2015).
8. Yang, Q. & Fukumizu, T. Targeting Chitin-containing Organisms. Springer. (2019).
9. Mazzarino, L., Travelet, C., Ortega-Murillo, S., Otsuka, I., Pignot-Paintrand, I., Lemos-Senna, E., & Borsali, R. Elaboration of chitosan-coated nanoparticles loaded with curcumin for mucoadhesive applications. *Journal of colloid and interface science*, **370**(1), 58-66. (2012).
10. Wu, Z., Ping, Q., Wei, Y., & Lai, J. Hypoglycemic efficacy of chitosan-coated insulin liposomes after oral administration in mice. *Acta pharmacologica Sinica*, **25**(7), 966–972. (2004).

11. Nguyen, T., Huang, L., Liu, L., Abdalla, A., Gauthier, M., & Yang, G. Chitosan-coated nanoliposomes for the oral delivery of berberine hydrochloride. *Journal of Materials Chemistry B*, 2(41), 7149-7159. (2014).
12. Călinoiu, L.-F., Ștefănescu, B., Pop, I., Muntean, L. & Vodnar, D. Chitosan Coating Applications in Probiotic Microencapsulation. *Coatings*, 9(3), 194. (2019).
13. Simonoska-Crcarevska, M., Glavas-Dodov, M. & Goracinova, K. Chitosan coated Ca–alginate microparticles loaded with budesonide for delivery to the inflamed colonic mucosa. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68(3), 565–578. (2008).
14. Fonte, P., Nogueira, T., Gehm, C., Ferreira, D., & Sarmiento, B. Chitosan-coated solid lipid nanoparticles enhance the oral absorption of insulin. *Drug delivery and translational research*, 1, 299-308. (2011).
15. Pham, X., Nguyen, T., Pham, T., Tran, T., & Tran, T. Synthesis and characterization of chitosan-coated magnetite nanoparticles and their application in curcumin drug delivery. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 7(4), 045010. (2016).
16. Bourbon, A., Pinheiro, A., Cerqueira, M. & Vicente, A. Influence of chitosan coating on protein-based nanohydrogels properties and *in vitro* gastric digestibility. *Food Hydrocolloids*, 60, 109-118. (2016).
17. Rodríguez-Pedroso, A., Ramírez-Arrebato, M., Rivero-González, D., Bosquez-Molina, E., Barrera-Necha, L. & Bautista-Baños, S. Propiedades químico-estructurales y actividad biológica de la quitosana en microorganismos fitopatógenos. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 15(3), 307-317. (2009).
18. Johnston I. The composition of the cell wall of *Aspergillus niger*. *The Biochemical journal*, 96(3), 651–658. (1965).
19. Kumaresapillai, N., Ameer-Basha, R., & Sathish, R. Production and Evaluation of Chitosan from *Aspergillus Niger* MTCC Strains. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 10(3), 553–558. (2011).
20. Qiu, Y., & Lee, P. I. (2017). Rational Design of Oral Modified-Release Drug Delivery Systems. *Developing Solid Oral Dosage Forms*, 519–554.

- 21 Endrenyi, L. & Tothfalusi, L. Metrics for the Evaluation of Bioequivalence of Modified-Release Formulations. *The AAPS Journal*, 14(4), 813-819. (2012)
22. Goyanes, A., Hatton, G., Merchant, H., & Basit, A. Gastrointestinal release behaviour of modified-release drug products: Dynamic dissolution testing of mesalazine formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 484(1-2), 103-108. (2015).
23. Parada, L., Katime, I., Crespín, G. Miranda, R. Caracterización de quitosano por viscosimetría capilar y valoración potenciométrica. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 11(5), 1-16. (2004).
24. Abdel-Gawad, K., Hifney, A., Fawzy, M. & Gomaa, M. Technology optimization of chitosan production from *Aspergillus niger* biomass and its functional activities. *Food Hydrocolloids*, 63, 593-601. (2017).
25. Marinela, C. Evaluación de los procesos para la obtención química de quitina y quitosano a partir de desechos de cangrejos. Escala piloto e industrial. *Revista Iberoamericana de polimeros*, 15(1). (2014).
26. Achig, Bryan. Síntesis de nanopartículas de quitosano a partir de quitina de exoesqueleto de camarón para encapsulamiento de colorantes naturales. (2019).
27. Insuasty, B., Yates, B. & Zuluaga, F. Análisis Orgánico Clásico y Espectral. Cali, Colombia: Universidad Del Valle. (2000).
28. Rowe, R.C., Sheskey, P.J. & Quinn, M.E. Handbook of Pharmaceuticals Excipients. United Kingdom: *Pharmaceutical Press*, sixth edition. (2009).
29. Coreño-Alonso, J. & Méndez-Bautista, M. Relación estructura-propiedades de polímeros. *Educación Química*, 21(4), 291-299. (2010).
30. Pacheco, R. Tratado de Tecnología Farmacéutica. Volumen III: Formas de dosificación. Madrid, España: Editorial Síntesis S.A. (2017).
31. U.S. Pharmacopeia (USP). <467> Disolventes residuales. (2019)

ANEXOS

A.1 Titulación potenciométrica #1 para %DDA de la obtención de quitosano #2

Volumen NaOH 0,1N (mL)	pH	$\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$
0,0	1,59	
3,0	1,82	0,077
4,0	1,95	0,130
5,0	2,12	0,170
6,0	2,36	0,240
6,5	2,55	0,380
7,0	2,88	0,660
7,5	3,85	1,940
8,0	5,17	2,640
8,5	5,70	1,060
9,0	6,11	0,820
9,5	6,47	0,720
10,0	6,83	0,720
10,5	7,16	0,660
11,0	10,30	6,280
11,5	11,05	1,500
12,0	11,32	0,540
12,5	11,48	0,320
13,0	11,6	0,240
13,5	11,68	0,160
14,0	11,76	0,160
14,5	11,81	0,100
15,0	11,86	0,100
15,5	11,91	0,100
16,0	11,95	0,080
16,5	11,98	0,060
17,0	12,01	0,060

$$\%DDA = [16,1 \cdot (V_2 - V_1) \cdot C] / w = 48,23\%$$

$$w \text{ (g)} = 0,1003; V_2 \text{ (mL)} = 11,0; V_1 \text{ (mL)} = 8,0$$

Titulación potenciométrica de quitosano obtenido

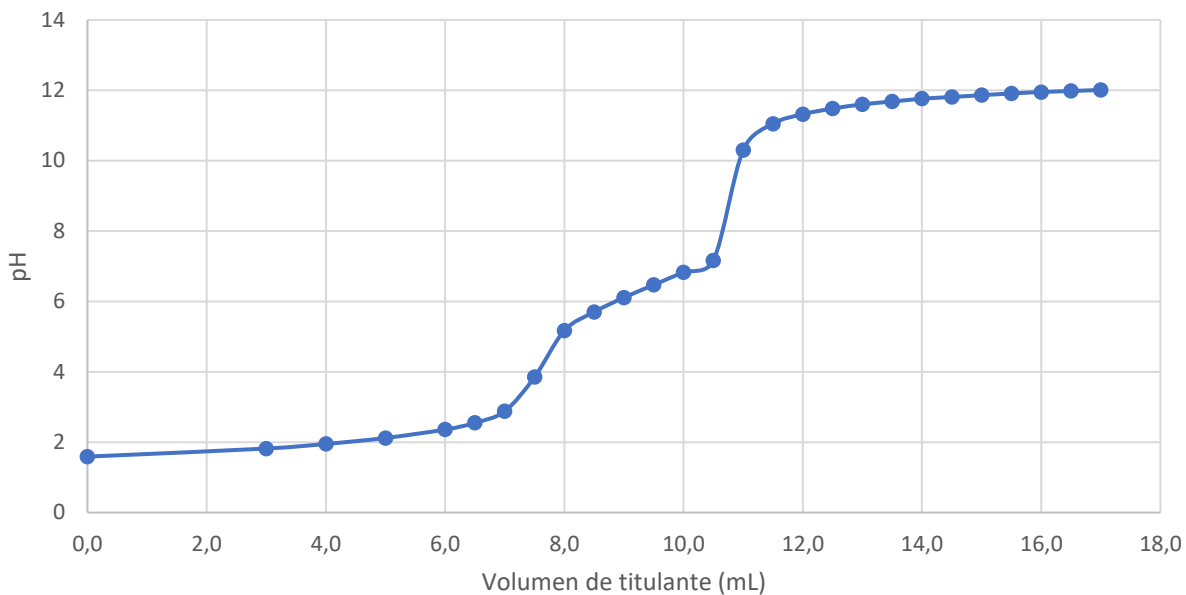
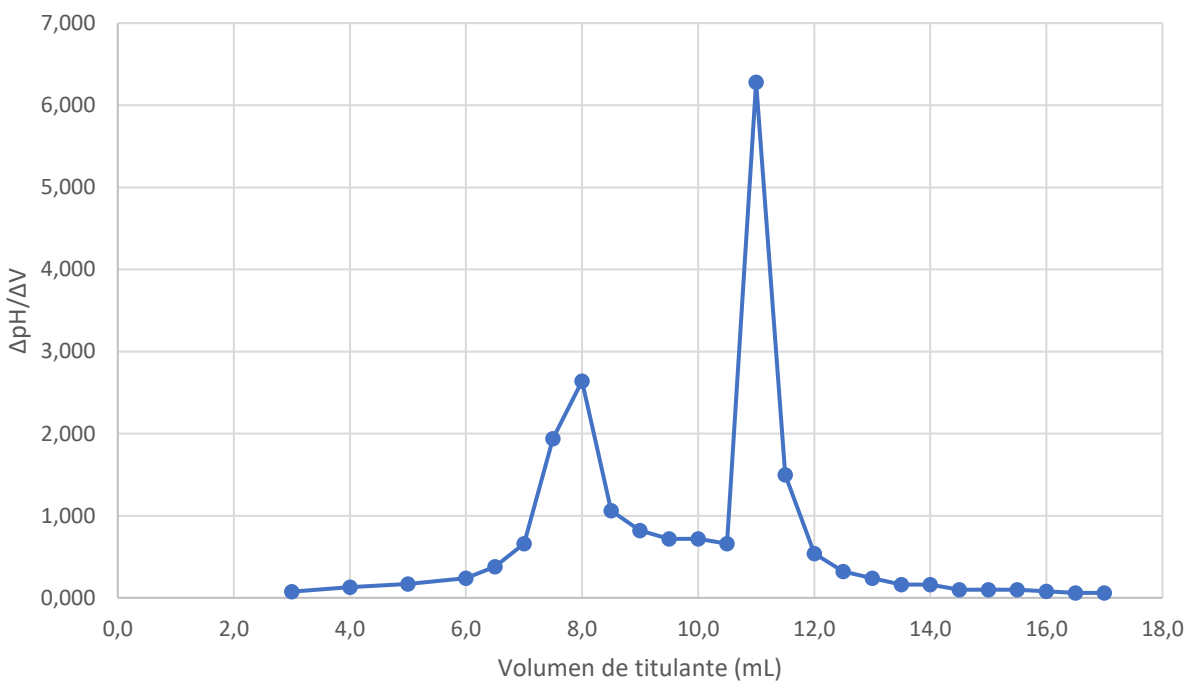


Gráfico $\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$ de titulación potenciométrica



A.2 Titulación potenciométrica #2 para %DDA de la obtención de quitosano #2

Volumen NaOH 0,1N (mL)	pH	$\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$
0,0	1,56	
3,0	1,81	0,083
4,0	1,93	0,120
5,0	2,14	0,210
6,0	2,43	0,290
6,5	2,75	0,640
7,0	3,56	1,620
7,5	5,09	3,060
8,0	5,66	1,140
8,5	6,07	0,820
9,0	6,43	0,720
9,5	6,77	0,680
10,0	7,04	0,540
10,5	9,88	5,680
11,0	10,97	2,180
11,5	11,29	0,640
12,0	11,47	0,360
12,5	11,59	0,240
13,0	11,69	0,200
13,5	11,76	0,140
14,0	11,82	0,120
14,5	11,87	0,100
15,0	11,91	0,080
15,5	11,95	0,080
16,0	11,99	0,080
16,5	12,02	0,060
17,0	12,05	0,060

$$\%DDA = [16,1 \cdot (V_2 - V_1) \cdot C] / w = 48,32\%$$

$$w \text{ (g)} = 0,1001; V_2 \text{ (mL)} = 10,5; V_1 \text{ (mL)} = 7,5$$

Titulación potencimétrica de quitosano obtenido

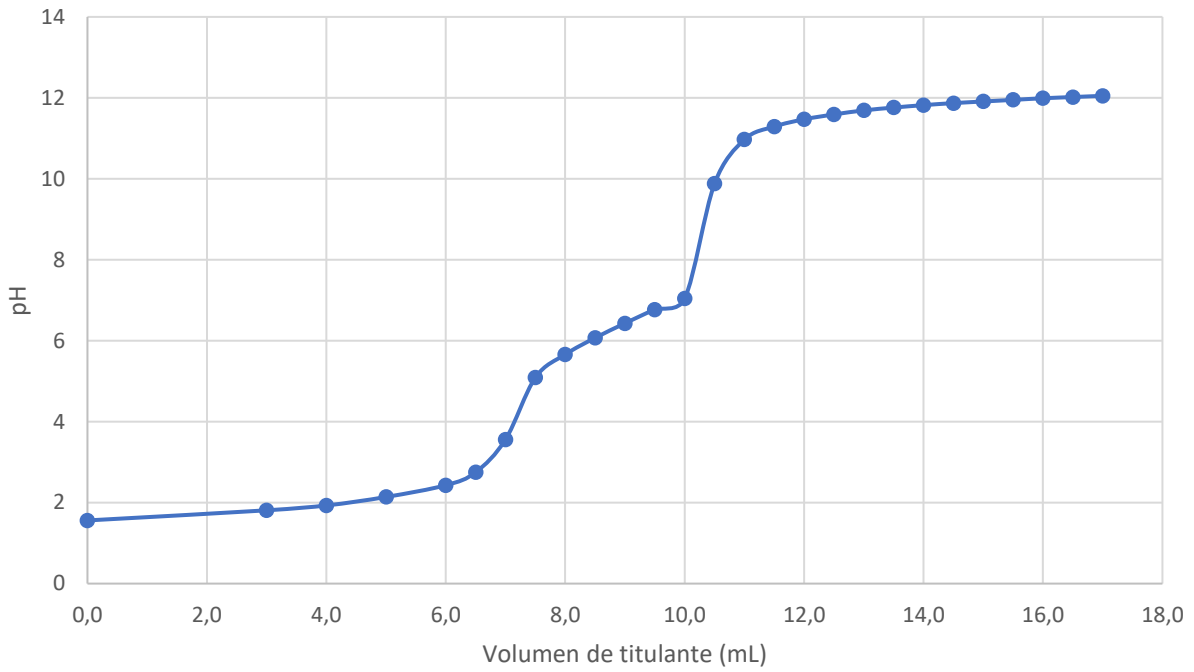
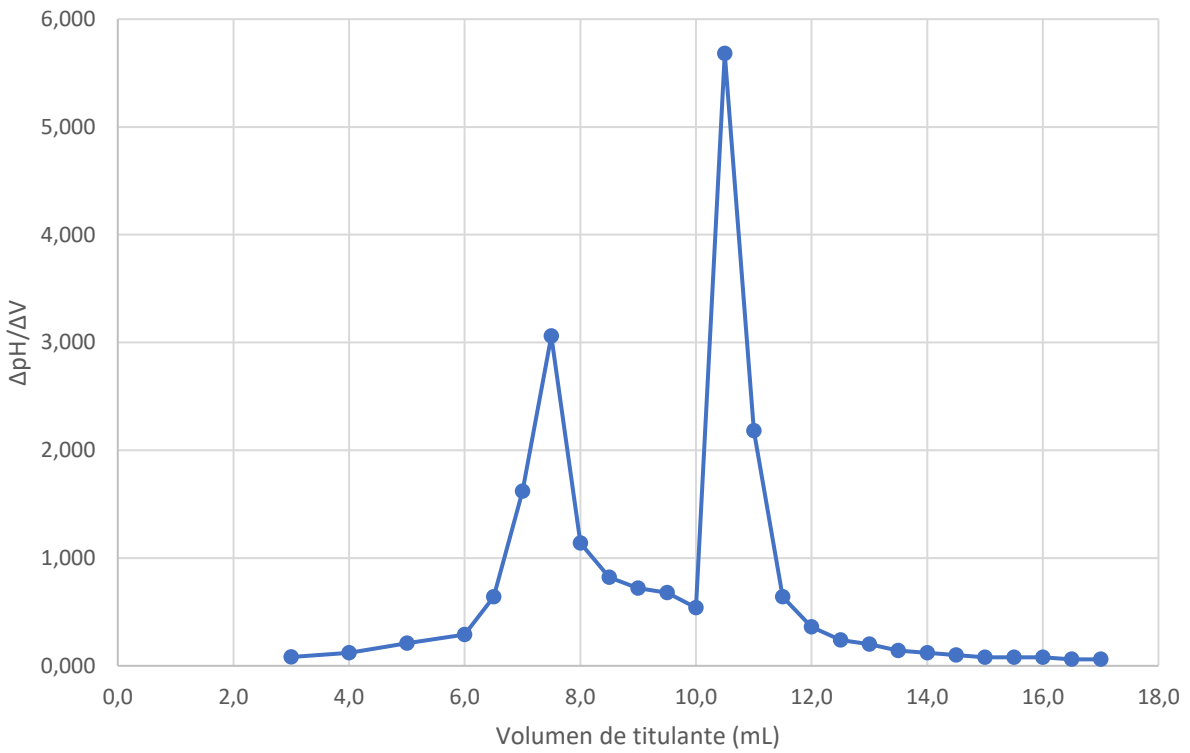


Gráfico $\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$ de titulación potenciométrica



A.3 Titulación potenciométrica #3 para %DDA de la obtención de quitosano #2

Volumen NaOH 0,1N (mL)	pH	$\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$
0,0	1,46	
3,0	1,7	0,080
4,0	1,81	0,110
5,0	1,94	0,130
5,5	2,02	0,160
6,0	2,11	0,180
6,5	2,23	0,240
7,0	2,37	0,280
7,5	2,57	0,400
8,0	2,93	0,720
8,5	4,36	2,860
9,0	5,55	2,380
9,5	6,21	1,320
10,0	6,81	1,200
10,5	9,88	6,140
11,0	10,88	2,000
11,5	11,18	0,600
12,0	11,36	0,360
12,5	11,48	0,240
13,0	11,57	0,180
13,5	11,65	0,160
14,0	11,71	0,120
14,5	11,77	0,120
15,0	11,82	0,100
15,5	11,86	0,080

$$\%DDA = [16,1*(V2-V1)*C] / w = 41,99\%$$

$$w \text{ (g)} = 0,0768; V2 \text{ (mL)} = 10,5; V1 \text{ (mL)} = 8,5$$

Titulación potenciométrica de quitosano obtenido

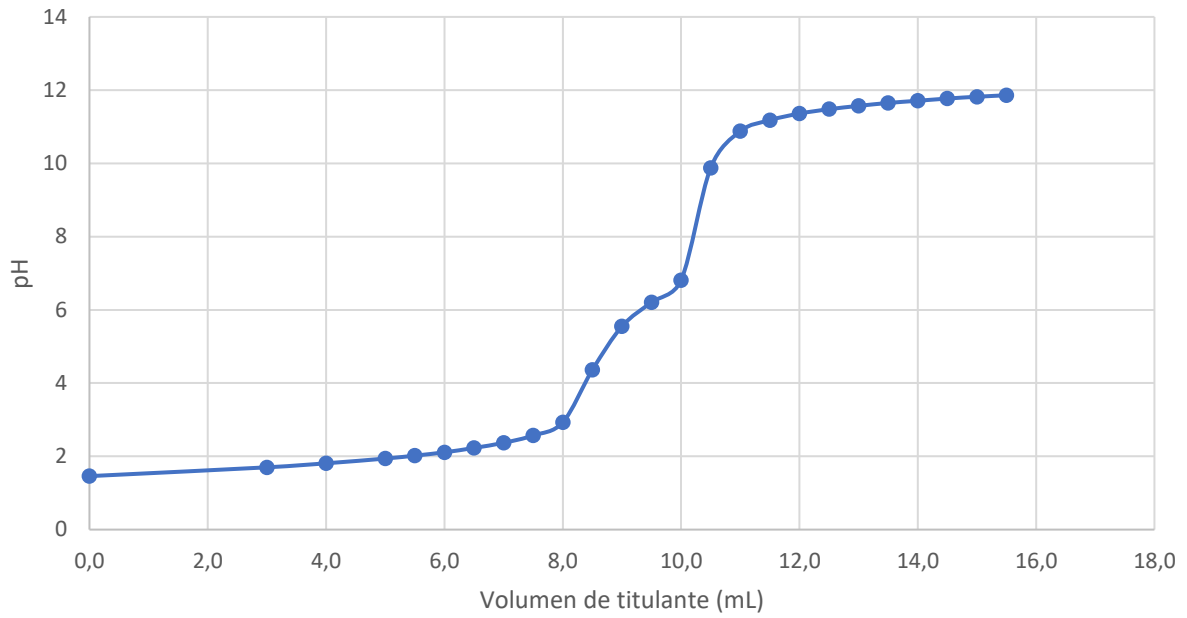
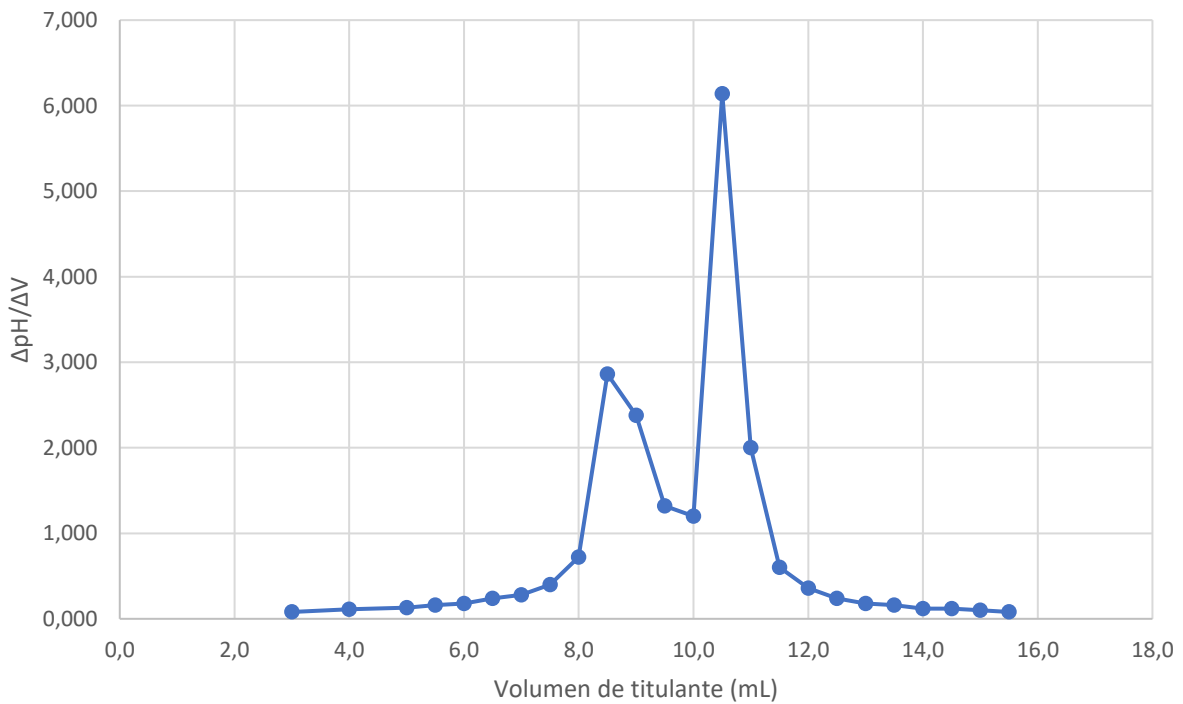


Gráfico $\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$ de titulación potenciométrica



A.4 Titulación potenciométrica #1 para %DDA de la obtención de quitosano #3

Volumen NaOH 0,1N (mL)	pH	$\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$
0,0	1,52	
3,0	1,76	0,080
4,0	1,86	0,100
5,0	2,02	0,160
6,0	2,24	0,220
6,5	2,39	0,300
7,0	2,63	0,480
7,5	3,03	0,800
8,0	3,98	1,900
8,5	5,14	2,320
9,0	5,84	1,400
9,5	6,36	1,040
10,0	6,81	0,900
10,5	8,67	3,720
11,0	10,72	4,100
11,5	11,17	0,900
12,0	11,39	0,440
12,5	11,53	0,280
13,0	11,63	0,200
13,5	11,71	0,160
14,0	11,77	0,120
14,5	11,83	0,120
15,0	11,88	0,100
15,5	11,92	0,080
16,0	11,96	0,080
16,5	11,99	0,060
17,0	12,02	0,060

$$\%DDA = [16,1 \cdot (V_2 - V_1) \cdot C] / w = 39,30\%$$

$$w \text{ (g)} = 0,1027; V_2 \text{ (mL)} = 11,0; V_1 \text{ (mL)} = 8,5$$

Titulación potenciométrica de quitosano obtenido

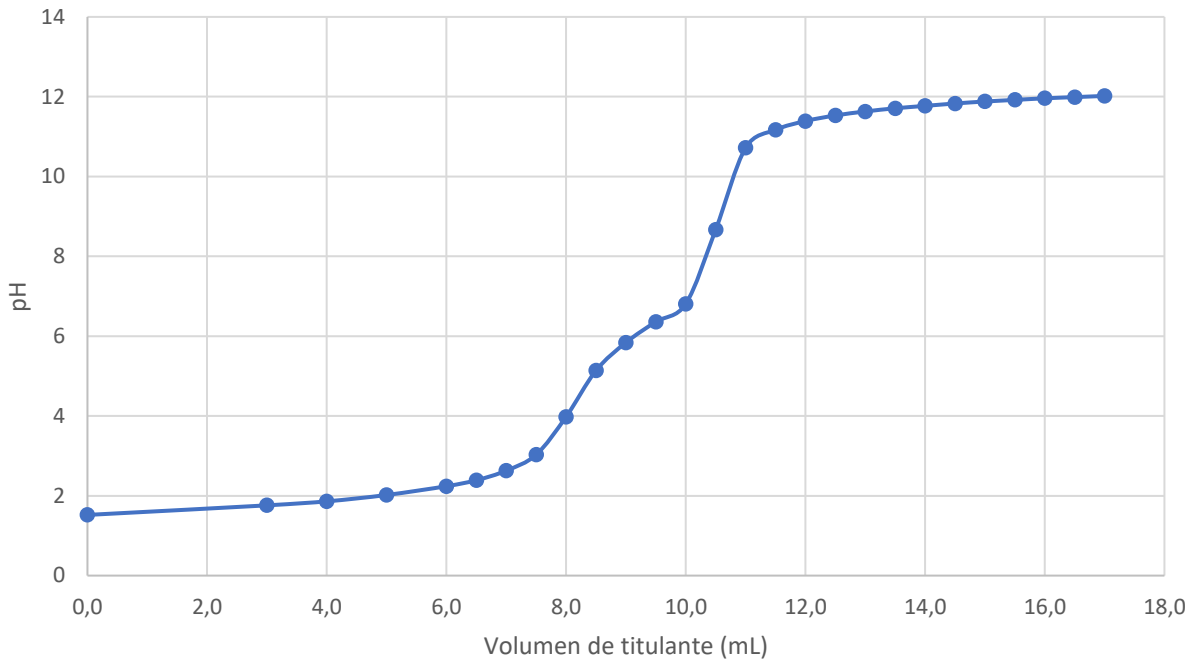
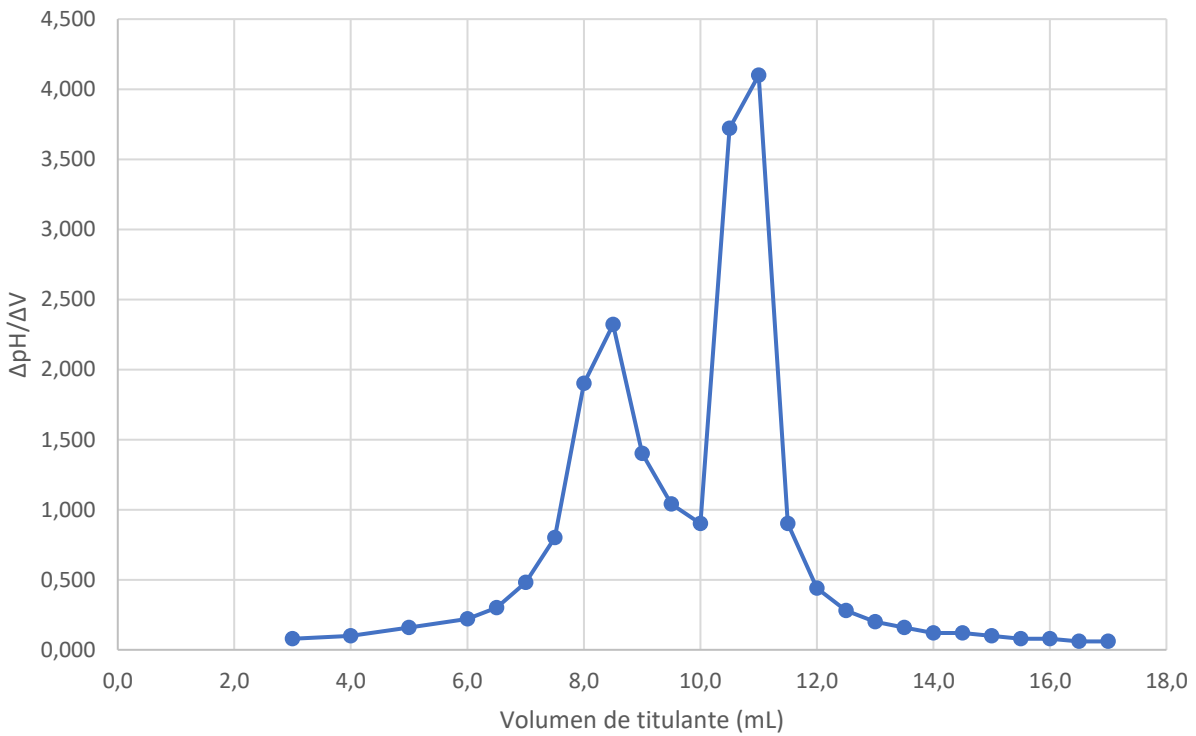


Gráfico $\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$ de titulación potenciométrica



A.5 Titulación potenciométrica #2 para %DDA de la obtención de quitosano #3

Volumen NaOH 0,1N (mL)	pH	$\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$
0,0	1,62	
3,0	1,82	0,067
4,0	1,93	0,110
5,0	2,07	0,140
6,0	2,29	0,220
6,5	2,43	0,280
7,0	2,64	0,420
7,5	2,97	0,660
8,0	3,67	1,400
8,5	4,91	2,480
9,0	5,65	1,480
9,5	6,18	1,060
10,0	6,62	0,880
10,5	7,15	1,060
11,0	9,9	5,500
11,5	10,81	1,820
12,0	11,16	0,700
12,5	11,36	0,400
13,0	11,49	0,260
13,5	11,58	0,180
14,0	11,66	0,160
14,5	11,72	0,120
15,0	11,78	0,120
15,5	11,83	0,100
16,0	11,87	0,080
16,5	11,91	0,080
17,0	11,94	0,060

$$\%DDA = [16,1 \cdot (V_2 - V_1) \cdot C] / w = 39,71\%$$

$$w \text{ (g)} = 0,1015; V_2 \text{ (mL)} = 11,0; V_1 \text{ (mL)} = 8,5$$

Titulación potencimétrica de quitosano obtenido

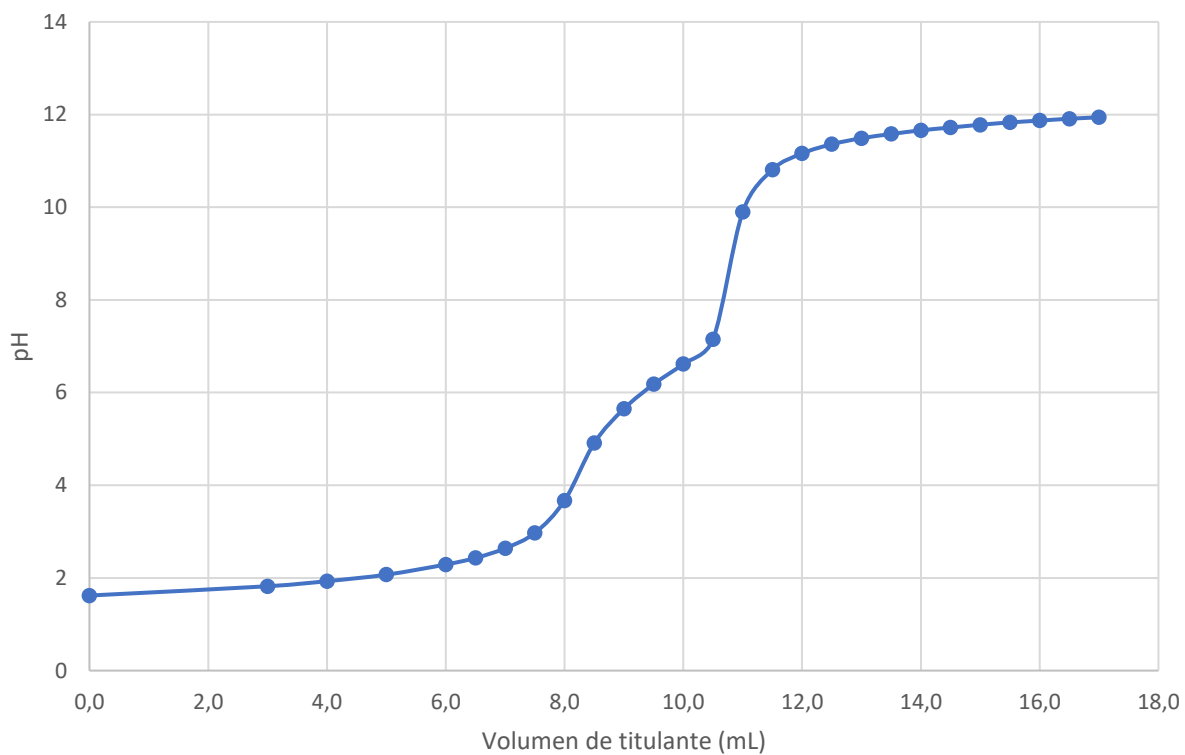
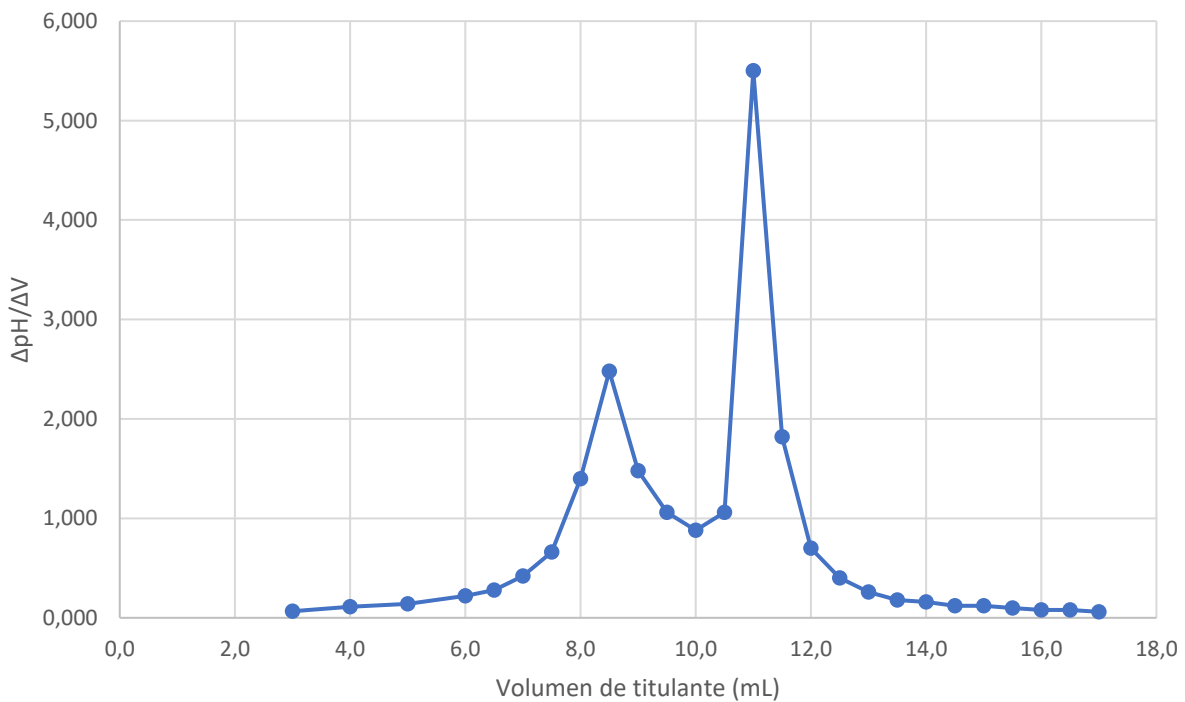


Gráfico $\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$ de titulación potencimétrica



A.6 Titulación potenciométrica #3 para %DDA de la obtención de quitosano #3

Volumen NaOH 0,1N (mL)	pH	$\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$
0,0	1,6	
3,0	1,79	0,063
4,0	1,91	0,120
5,0	2,06	0,150
6,0	2,28	0,220
6,5	2,46	0,360
7,0	2,69	0,460
7,5	3,08	0,780
8,0	4,03	1,900
8,5	5,17	2,280
9,0	5,83	1,320
9,5	6,33	1,000
10,0	6,79	0,920
10,5	7,75	1,920
11,0	10,29	5,080
11,5	10,97	1,360
12,0	11,25	0,560
12,5	11,42	0,340
13,0	11,54	0,240
13,5	11,63	0,180
14,0	11,69	0,120
14,5	11,75	0,120
15,0	11,80	0,100
15,5	11,85	0,100
16,0	11,90	0,100
16,5	11,93	0,060
17,0	11,96	0,060

$$\%DDA = [16,1 \cdot (V_2 - V_1) \cdot C] / w = 39,64\%$$

$$w \text{ (g)} = 0,1017; V_2 \text{ (mL)} = 11,0; V_1 \text{ (mL)} = 8,5$$

Titulación potenciométrica de quitosano obtenido

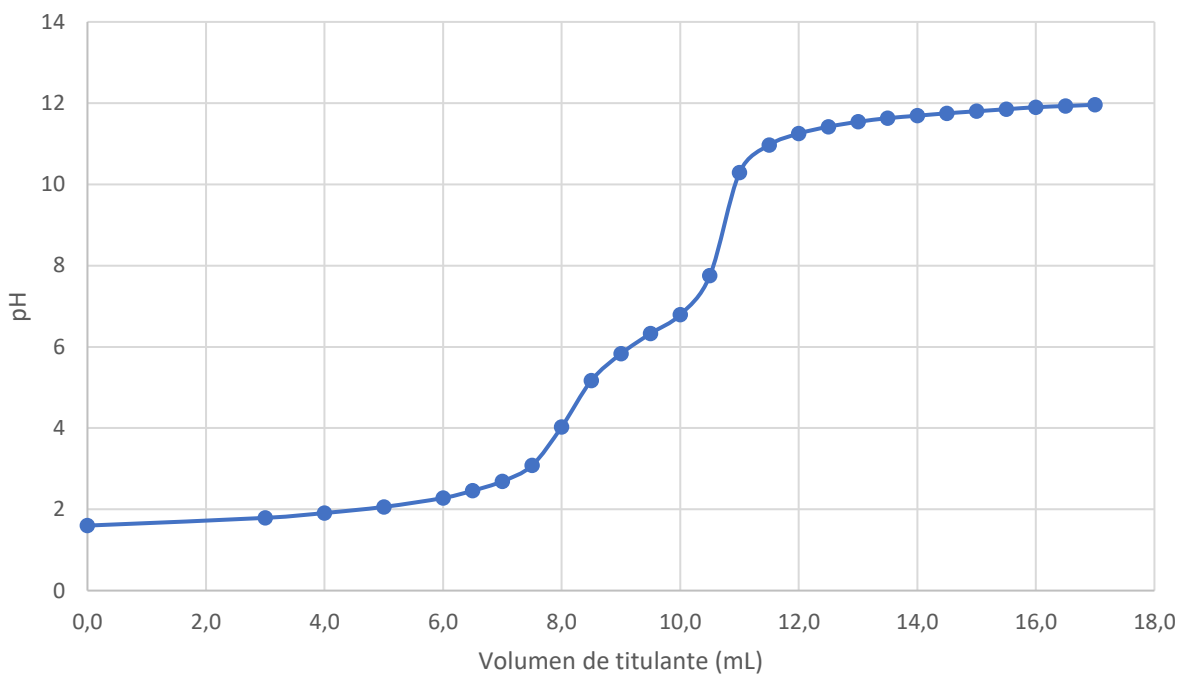
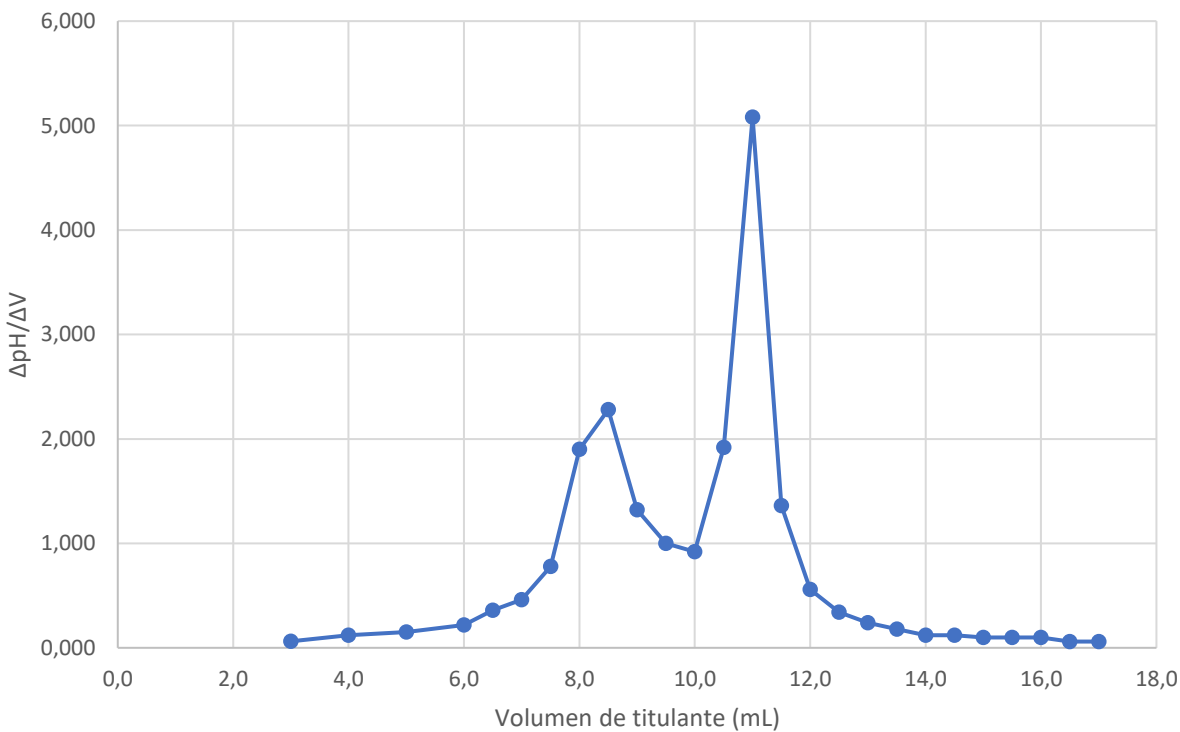


Gráfico $\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$ de titulación potenciométrica



A.7 Titulación potenciométrica #4 para %DDA de la obtención de quitosano #3

Volumen NaOH 0,1N (mL)	pH	$\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$
0,0	1,6	
3,0	1,74	0,047
4,0	1,83	0,090
5,0	1,97	0,140
6,0	2,11	0,140
6,5	2,22	0,220
7,0	2,35	0,260
7,5	2,51	0,320
8,0	2,76	0,500
8,5	3,24	0,960
9,0	4,57	2,660
9,5	5,59	2,040
10,0	6,14	1,100
10,5	6,58	0,880
11,0	7,03	0,900
11,5	9,30	4,540
12,0	10,42	2,240
12,5	11,01	1,180
13,0	11,3	0,580
13,5	11,47	0,340
14,0	11,59	0,240
14,5	11,68	0,180
15,0	11,75	0,140
15,5	11,81	0,120
16,0	11,87	0,120
16,5	11,91	0,080
17,0	11,95	0,080

$$\%DDA = [16,1*(V2-V1)*C] / w = 39,82\%$$

$$w \text{ (g)} = 0,1012; V2 \text{ (mL)} = 11,5; V1 \text{ (mL)} = 9,0$$

Titulación potencimétrica de quitosano obtenido

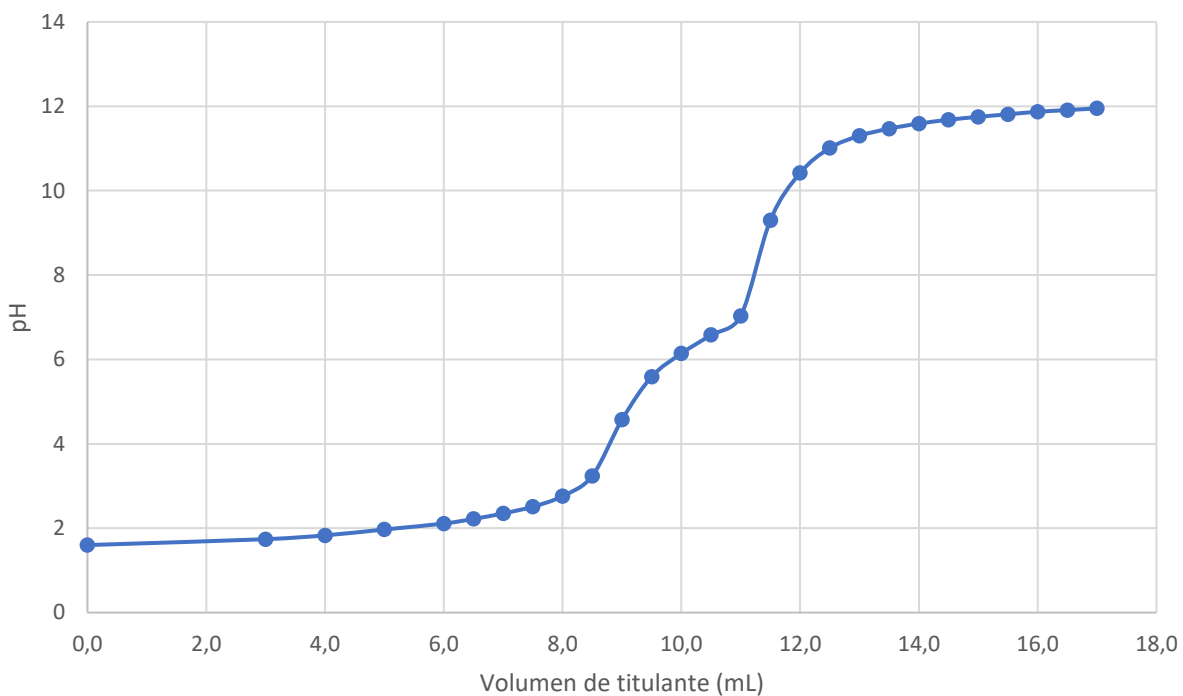
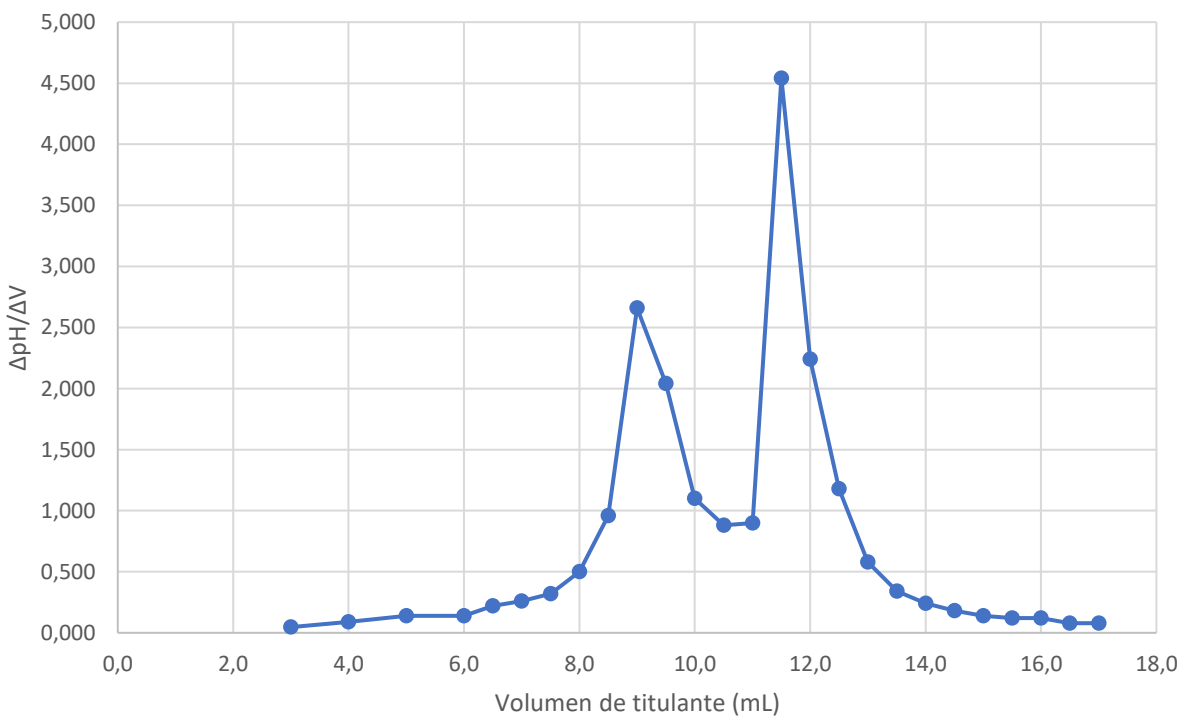


Gráfico $\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$ de titulación potencimétrica



A.8 Titulación potenciométrica #5 para %DDA de la obtención de quitosano #3

Volumen NaOH 0,1N (mL)	pH	$\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$
0,0	1,85	
3,0	2,28	0,143
4,0	2,76	0,480
5,0	4,68	1,920
5,5	5,52	1,680
6,0	6,07	1,100
6,5	6,51	0,880
7,0	6,94	0,860
7,5	8,54	3,200
8,0	10,18	3,280
8,5	10,92	1,480
9,0	11,27	0,700
9,5	11,46	0,380
10,0	11,59	0,260
10,5	11,68	0,180
11,0	11,75	0,140
11,5	11,81	0,120
12,0	11,87	0,120
12,5	11,91	0,080
13,0	11,95	0,080
13,5	11,98	0,060
14,0	12,02	0,080

$$\% \text{DDA} = [16,1 * (\text{V}_2 - \text{V}_1) * \text{C}] / \text{w} = 48,21\%$$

$$\text{w (g)} = 0,1002; \text{V}_2 \text{ (mL)} = 8,0; \text{V}_1 \text{ (mL)} = 5,0$$

Titulación potencimétrica de quitosano obtenido

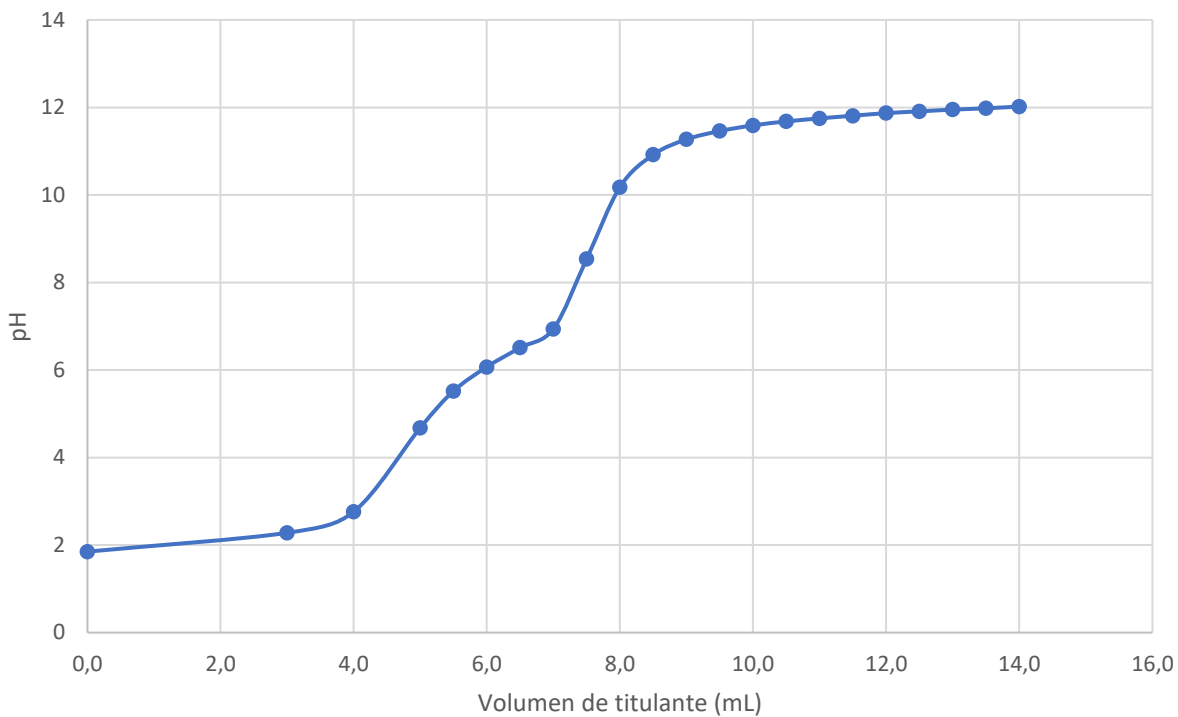
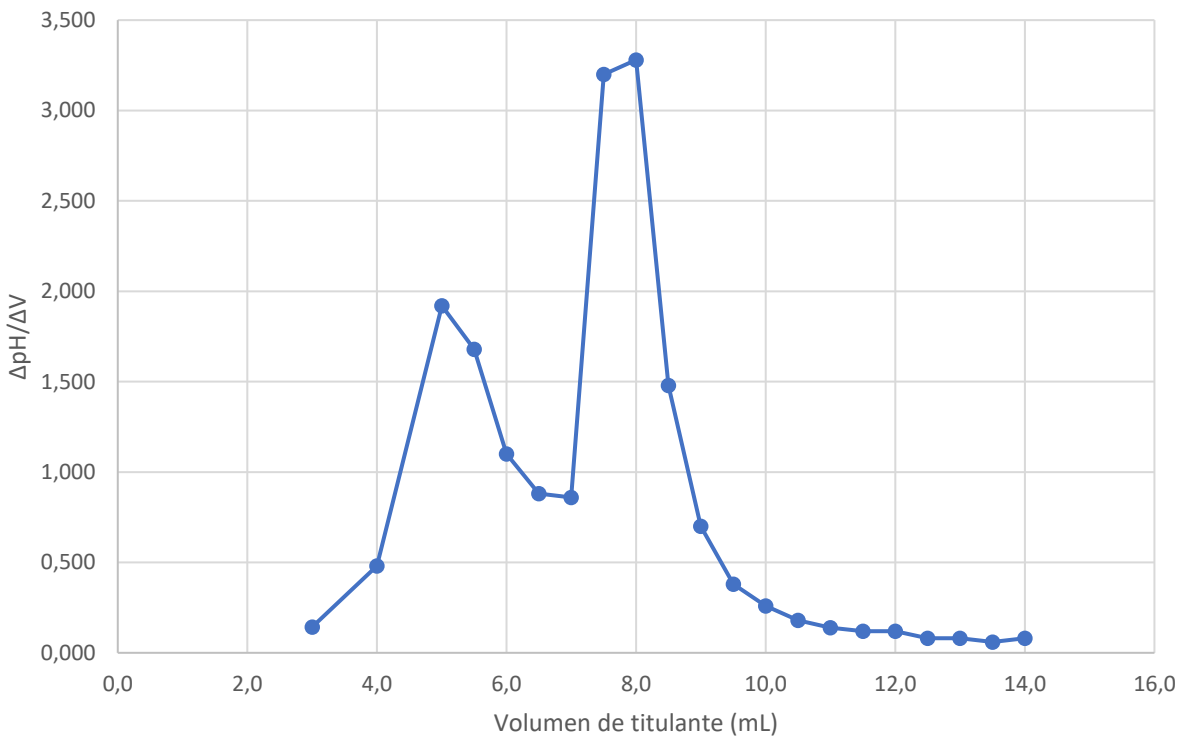


Gráfico $\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$ de titulación potenciométrica



A.9 Especificaciones de producto de quitosano comercial utilizado

SIGMA-ALDRICH®

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: www.sigmaaldrich.com

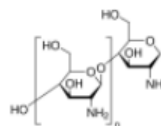
Email USA: techserv@sial.com

Outside USA: eurtechserv@sial.com

Product Specification

Product Name:
Chitosan - low molecular weight

Product Number: **448869**
CAS Number: 9012-76-4
MDL: MFCD00161512



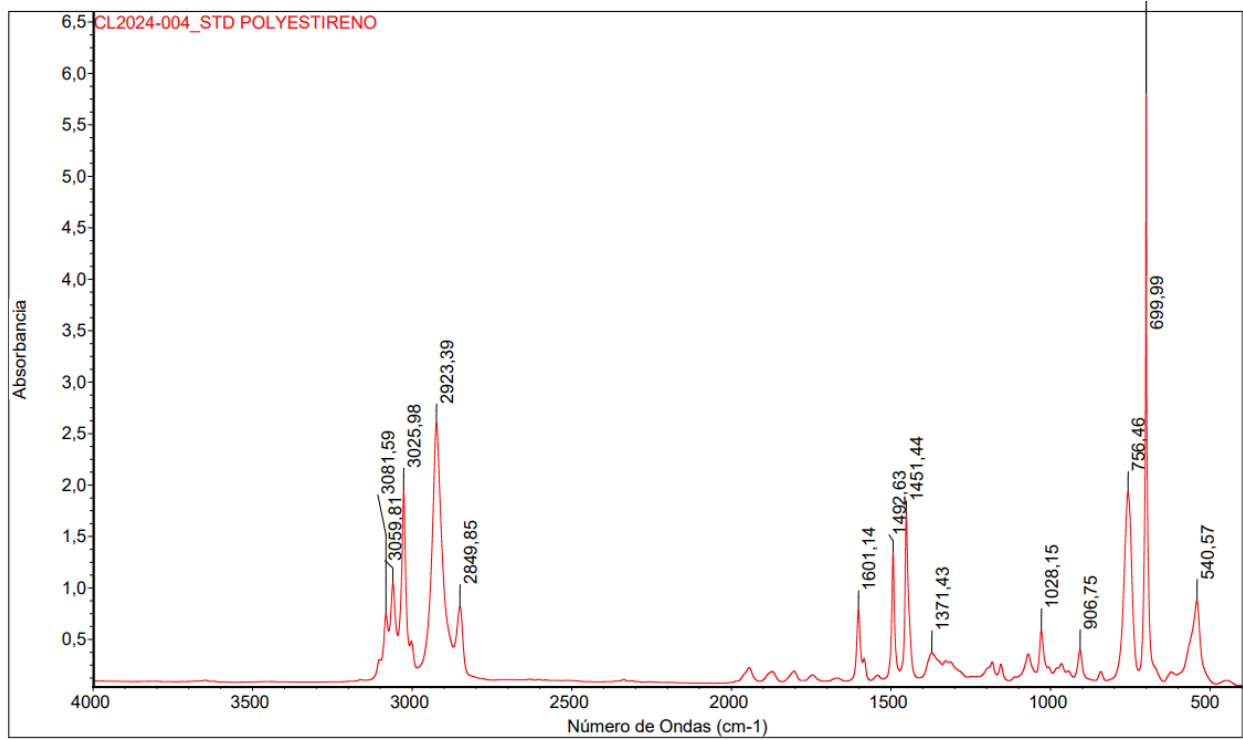
TEST

Specification

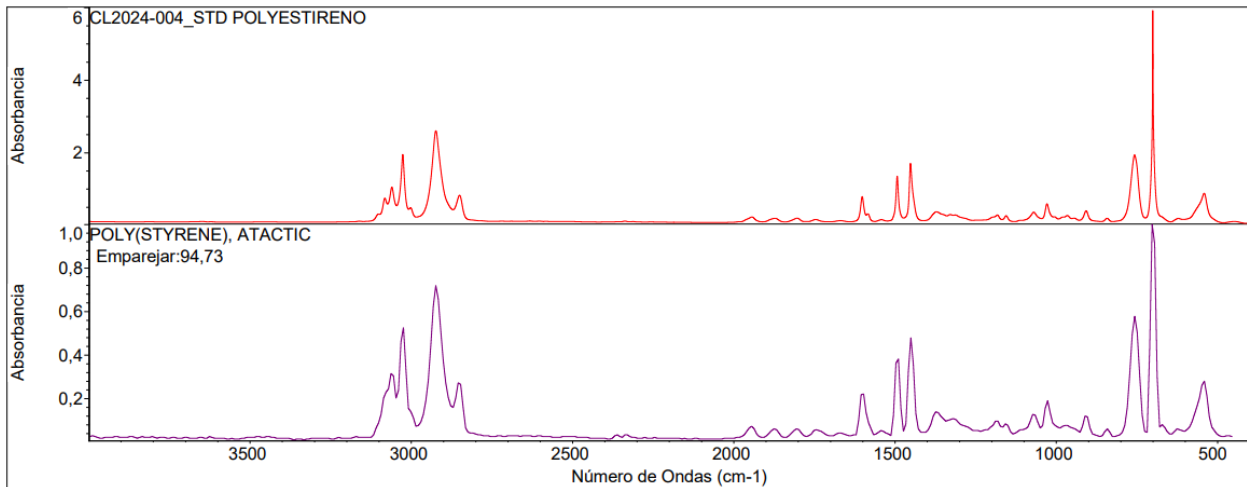
Appearance (Color)	Faint Beige to Beige
Appearance (Form)	Conforms to Requirements
Powder and/or Chips	
Assay	≥ 75 %
Deacetylation	
Viscosity	20 - 300 cps
c = 1% in 1% Acetic Acid	

Specification: PRD.2.ZQ5.10000020770

A.10 Espectro de verificación del FTIR con estándar de poliestireno



A.11 Grado de similitud de la comparación de estándar de poliestireno con la base de datos



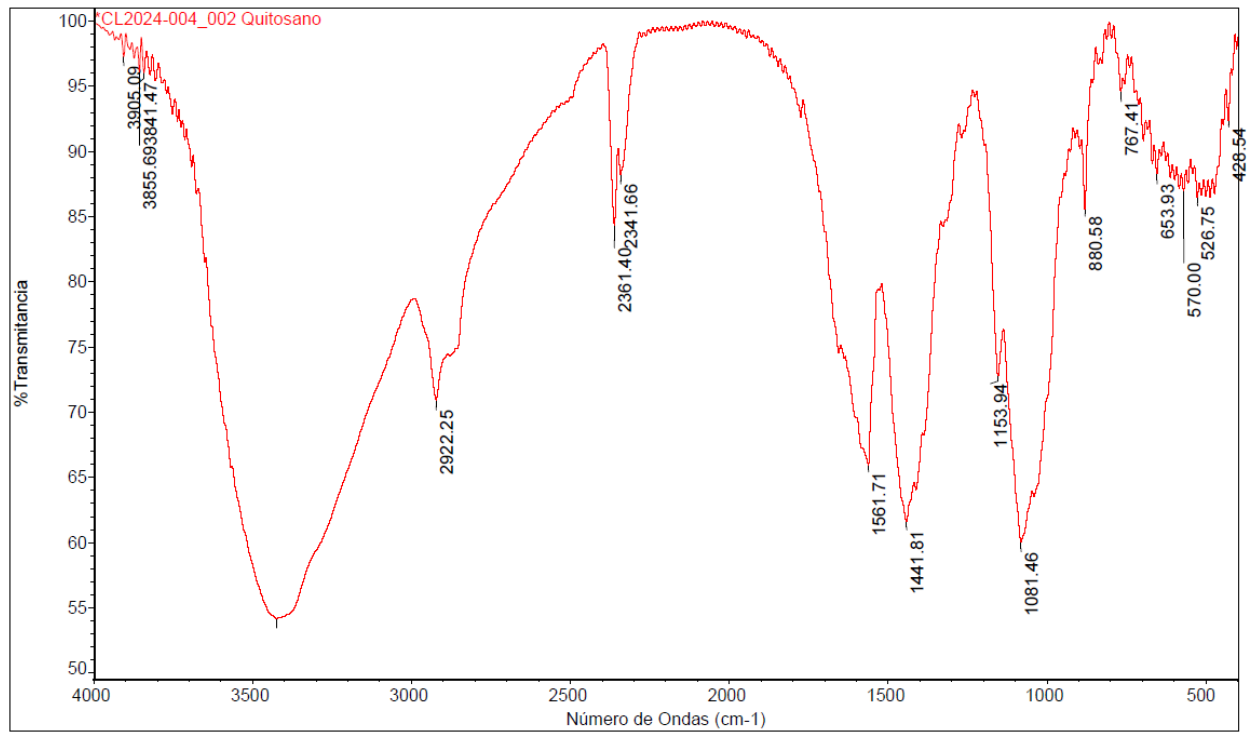
La mayor similitud es muy buena, pero el segundo acierto también es similar.

Espectrom: Vie Ene 26 09:19:15 2024 (GMT-05:00)
 Región: 450.00-2600.00
 Tipo de búsqueda: Correlación

Lista de Aciertos:

Índice	Simili	Nombre del compuesto	Biblioteca
46	94.73	POLY(STYRENE), ATACTIC	Hummel Polymer Sample Library
523	92.67	Poly(styrene:tetramethylene)	HR Nicolet Sampler Library
469	90.27	Poly(styrene:propylene oxide)	HR Nicolet Sampler Library

A.12 Espectro FTIR de extracción de quitosano #3



A.13 Certificado del estándar de indio utilizado en la verificación del DSC

Reference Material Certificate

TEST	SPECIFICATION
Product Name	Indium
Product Number	0319-0033
Lot Number	BV297605
Build Date	September 2, 2019
Material form	Wire
Nominal Melt Temperature	156.60 °C
Nominal Transition Energy (ΔH)	28.45 J/g

Spectrographic Analysis

Material	Analysis	
Indium	99.9	%
Lead	0.00004	%
Tin	0.0001	%
Copper	0.00007	%
Iron	0.00002	%
Thallium	N/D	%
Magnesium	N/D	%

If = N/D (Not Detected)

This material is used to calibrate a thermal analysis instrument. Please refer to your instrument's User Manual for the correct use of this reference material.

A.14 Termograma de verificación del DSC con el estándar de indio

Sample: Verificación de Indio
Size: 6.0500 mg
Method: CL2024-004
Comment: CL2024-004_Verificación de Indio

DSC

File: ...\\CL2024-004_Verificación de Indio.001
Operator: JJUrbano
Run Date: 24-Jan-2024 10:36
Instrument: DSC Q2000 V24.11 Build 124

