

**SINTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN MATERIAL POLIMÉRICO CARGADO
CON NOVALURON Y PYRIPROXYFEN, LARVICIDAS EMPLEADOS EN EL
CONTROL DE VECTORES DE ENFERMEDADES TROPICALES**

VIVIAN TATIANA MANZANO HERRERA

**UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA
SANTIAGO DE CALI**

2016

**SINTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN MATERIAL POLIMÉRICO CARGADO
CON NOVALURON Y PYRIPROXYFEN, LARVICIDAS EMPLEADOS EN EL
CONTROL DE VECTORES DE ENFERMEDADES TROPICALES**

VIVIAN TATIANA MANZANO HERRERA

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TITULO DE
PREGRADO EN QUIMICA FARMACÉUTICA**

**TUTORA
NORA ELENA VALDERRUTEN POSSO PhD**

**UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
PROGRAMA DE QUIMICA FARMACÉUTICA
SANTIAGO DE CALI
2016**

AGRADECIMIENTO

Primero que todo quisiera agradecer a mis padres, hermanos, hijo y pareja por el apoyo incondicional que me han brindado durante todo el proceso de mi vida universitaria, porque después de tanta espera todos los sacrificios, penas, y alegrías, hoy han valido la pena.

A mi tutora, la Dra. Nora Elena Valderruten Posso por haberme aceptado en su grupo de investigación, por su constante disposición para aclarar mis dudas y por sus valiosos aportes para el proyecto.

Gracias a Julian Garcia, Catalina Mosquera, Kelly Borrero, Leidy Gallego y Ferley Orozco, por su apoyo incondicional y por acompañarme durante el desarrollo de este proyecto.

Gracias a todos, porque sin ustedes y mi dedicación esto no hubiera sido posible.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	3
TABLA DE CONTENIDO	4
Lista de Figuras	6
Lista de esquemas	7
Lista de tablas	8
RESUMEN	9
Abstract	10
INTRODUCCIÓN	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	14
El dengue y el mosquito <i>Aedes aegypti</i>	14
Larvicidas empleados para el control de crecimiento del vector del dengue	16
Los hidrogeles	19
El quitosano	20
OBJETIVOS	22
Objetivo General	22
Objetivos Específicos	22
MATERIALES Y MÉTODOS	23
Materiales	23
Soluciones y reactivos	24
Síntesis del hidrogel de quitosano e inclusión del larvicida	24
Estudios de FT-IR	26
Caracterización por DSC (Calorimetría diferencial de barrido)	26
Cinética de hinchamiento del hidrogel	26
Matriz marco lógico	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
Síntesis de los hidrogeles	29
Espectroscopia Infrarroja (FT-IR)	29
Calorimetría Diferencial de barrido (DSC)	32

Cinéticas de hinchamiento	35
CONCLUSIONES	42
RECOMENDACIONES	43
REFERENCIAS	44

Lista de Figuras

Figura 1. Ciclo de Vida del Mosquito <i>Aedes Aegypti</i>	15
Figura 2 Estructura química de la Quitina	15
Figura 3. Áreas urbanas evaluadas en los diferentes departamentos.	17
Figura 4. Estructura Química del Novaluron.	18
Figura 5. Estructura Química del Pyriproxyfen	18
Figura 6. Sistema de liberación controlada de un hidrogel. (Romero, 2011)	19
Figura 7. Estructura química del quitosano.....	20
Figura 8.Estructuras químicas del a). Quitosano, b). Novaluron, c). Pyriproxyfen, d). Ácido acético y e). Glutaraldehído.	23
Figura 9. Hidrogeles de quitosano obtenidos.....	29
Figura 10. Espectros FT-IR de: a) hidrogeles de quitosano (control). B) hidrogeles de quitosano cargados con Pyriproxyfen (QP). C) hidrogeles de quitosano cargados con novaluron (QN).	30
Figura 11. Espectro FT-IR de una muestra estándar de Novaluron.....	31
Figura 12. Espectro FT-IR de una muestra estándar de Piryproxyfen	32
Figura 13. Termograma de Q al 25%, 50% y 75% de entrecruzamiento.	33
Figura 14. Termograma de QP al 25%, 50% y 75% de entrecruzamiento.....	33
Figura 15. Termograma de QN al 25%, 50% y 75% de entrecruzamiento.	34
Figura 16 Porcentaje de Hinchamiento de los hidrogeles en función del tiempo, para Q50%, Q75%, QP50%, QP75%, QN50%, y QN75%, respectivamente.	37
Figura 17.Porcentaje de agua en los hidrogeles en función del tiempo, para Q50%, Q75%, QP50%, QP75%, QN50%, y QN75%, respectivamente.	38
Figura 18. Cinética de orden 1 de los hidrogeles en función del tiempo, para para Q50%, Q75%, QP50%, QP75%, QN50%, y QN75%, respectivamente.	39
Figura 19. Regresión lineal de las cinéticas de hinchamiento, siguiendo una cinética de segundo orden para Q50%, Q75%, QP50%, QP75%, QN50%, y QN75%, respectivamente.	40

Lista de esquemas

Esquema 1. Reacción de desacetilación del quitosano, y su mecanismo de reacción.	21
Esquema 2. Reacción para la síntesis del hidrogel de quitosano	21

Lista de tablas

Tabla 1. Composición de los hidrogeles de quitosano cargados con Novaluron ...	25
Tabla 2. Composición de los hidrogeles de quitosano cargados con Pyriproxyfen	25
Tabla 3. Composición de los hidrogeles de quitosano sin larvicida	25
.Tabla 4. Matriz de marco lógico	28
Tabla 5. Resultados del grado de hinchamiento de los hidrogeles en el equilibrio	36
Tabla 6. Datos de la Constante de cinética de hinchamiento y el porcentaje de hinchamiento en el equilibrio.	41

RESUMEN

Los hidrogeles son cadenas poliméricas entrecruzadas, caracterizadas por ser hidrófilos y absorber grandes cantidades de agua sin disolverse. Son ampliamente utilizados en la industria biomédica y agrícola como sistemas de liberación controlada de medicamentos e insecticidas. Con el objetivo de buscar una alternativa para reducir la cantidad de insecticida aplicado y extender el tiempo de eficacia del mismo en el control del mosquito *Aedes aegypti*, se sintetizaron sistemas de liberación modificada. Se sintetizaron hidrogeles de quitosano entrecruzados con glutaraldehído, cargados con la cantidad necesaria de larvicida para obtener la concentración letal 99 (DL99) de los larvicidas Novaluron y Pyriproxyfen. Posteriormente se realizaron estudios espectrofotométricos de Infrarrojo, térmicos (DSC) y de hinchamiento con el propósito de evaluar si la inclusión de larvicidas afecta las propiedades del hidrogel.

Se observó en los espectros de Infrarrojo la formación del enlace imina con la aparición de la banda a aproximadamente 1655 cm^{-1} , lo que confirmó la reacción de entrecruzamiento. Aunque no se observó ninguna banda relacionada con los larvicidas incluidos en el hidrogel, esto se atribuyó a la baja concentración de los mismos y a posibles solapamientos con las señales correspondientes al hidrogel. Por otra parte, el análisis térmico (DSC) reveló que el material es totalmente amorfo y que sus propiedades térmicas no son afectadas por la inclusión de los larvicidas.

El grado de hinchamiento de los materiales presentó una fuerte dependencia con el grado de entrecruzamiento, siendo los materiales entrecruzados al 50% los que presentaron mayor porcentaje de hinchamiento. También se encontró que la presencia de los larvicidas afectó la velocidad de hinchamiento de los materiales, observándose que los materiales cargados con Pyriproxyfen obtuvieron un hinchamiento similar al quitosano, con respecto al hinchamiento de los materiales cargados con Novaluron el cual fue mucho menor.

Abstract

Hydrogels are crosslinked polymeric chains, characterized for being hydrophilic and absorb large amounts of water without dissolving. They are widely used in biomedical and agricultural industry as controlled release systems of drugs and insecticides. With the objective to find an alternative to reduce the amount of insecticide applied and extend the time of effectiveness of larvicides in the control of *Aedes aegypti* mosquitoes, modified release systems were synthesized. chitosan hydrogels crosslinked with glutaraldehyde, loaded with the necessary amount of larvicide for the lethal concentration 99 (LD99) of pyriproxyfen and Novaluron was synthesized. It was carried out studies of Infrared spectrophotometric, thermal (DSC) and swelling with the purpose to evaluate the influence of larvicides inclusion affects the properties of the hydrogel.

Was observed in the IR spectra the imine bond with the appearance of the band at 1655 cm^{-1} , confirming the crosslinking reaction. Although was not observed bands related with the inclusion of larvicides in the hydrogel, this was attributed to low concentration or larvicide and overlaps signals of the hydrogel. Moreover, thermal analysis (DSC) revealed that the material is fully amorphous and that its thermal properties are not affected by the inclusion of larvicides.

The degree of swelling of the materials presented a strong dependence on the degree of crosslinking, the materials crosslinked with 50% present a higher percentage of swelling. We also found that the presence of larvicides affect the swelling rate of the material, observing that the materials loaded with Pyriproxyfen obtained similar swelling to chitosan, relative to the swelling of the materials loaded with Novaluron which was much lower.

INTRODUCCIÓN

Algunas enfermedades tropicales tales como el dengue y el chikungunya han generado un gran impacto a nivel nacional. Se han reportado 80.034 casos de dengue y 353.323 casos de chikungunya en el país a la semana 45 (INS, 2015), por lo que se han convertido en una epidemia. Aunque existen diversos métodos para controlar al vector, se tiene una limitante respecto al uso de insecticidas ya que se ha observado resistencia por parte del mosquito *Aedes aegypti* (Ocampo, Salazar Terreros, Mina, McAllister , & Brogdon, 2011)

Actualmente, los hidrogeles de quitosano son ampliamente utilizados como mecanismo de liberación controlada, debido a su capacidad de liberar compuestos químicos por difusión simple, mientras absorben grandes cantidades de agua disolverse (Arredondo & Londoño Lopez, 2009). Los hidrogeles de quitosano son además biodegradables, biocompatibles y de baja toxicidad (Romero, 2011). En la industria agrícola son empleados para la liberación de insecticidas para el control de plagas (Rojas, Moya, Sibaja, Ruepert, & Vega-Baurdrit, 2004).

Por otra parte, el Novaluron y el Pyriproxyfen son insecticidas de nueva generación conocidos como reguladores del crecimiento de insectos (IGRs) y actúan en diferentes vías metabólicas de la síntesis de quitina y la hormona juvenil, importantes para el crecimiento de los mosquitos de *Aedes aegypti*. Estos compuestos han demostrado baja toxicidad y bajo impacto para el medio ambiente, por lo que hoy en día son la primera elección para el control de vectores de enfermedades tropicales.

En este proyecto se sintetizaron hidrogeles de quitosano cargados con Novaluron y Pyriproxyfen, además se caracterizaron los materiales sintetizados a través de técnicas espectrofotométricas y térmicas, y se determinó la cinética de hinchamiento de los materiales obtenidos. Lo anterior con el fin de identificar la influencia de los larvicidas sobre el material y determinar en un futuro su utilidad como sistemas de liberación controlado de los larvicidas Novaluron y Pyriproxyfen.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Las enfermedades tropicales son según la Organización mundial de la salud “*aquellas enfermedades infecciosas que ocurren únicamente en zonas calientes y húmedas*”. El dengue y el chikungunya son un ejemplo de estas enfermedades que hoy en día predominan en nuestro país, se caracterizan por compartir el mismo vector de infección, el mosquito *A. egypti*; al igual que presentan cuadros clínicos semejantes. (OMS, 2014)

El instituto nacional de salud ha descrito la enfermedad del dengue como uno de los problemas de salud pública de mayor prioridad para el país, debido al aumento en el número de personas infectadas y de la creciente invasión del mosquito *A. egypti* en un 90% del territorio nacional, siendo este el principal vector transmisor de la enfermedad. El aumento de la población de mosquito se ve favorecida por el desarrollo urbano incontrolado, inadecuados programas de control de vectores y a la constante movilidad de las personas entre países (Ocampo, Mina, Carabalí, Alexander, & Osorio, 2013). A nivel nacional, el boletín epidemiológico No. 45 generado por el instituto Nacional de Salud revela que de los 22 municipios que presentan el mayor número de casos de infección por dengue notificados, Cali es el primero en la lista, (INS, 2015) lo que es una preocupación muy grande para los habitantes de este municipio.

Aunque cada día se promocionan diferentes programas para controlar el crecimiento de este vector, dirigidos a colegios, empresas y hogares, es necesario el uso de insecticidas para garantizar el objetivo de estos programas. Sin embargo, la efectividad de este último se ve disminuida debido a los constantes cambios climáticos que se presentan en el municipio y que reducen la vida útil de estos insecticidas, lo que ha provocado un aumento en el número de aplicaciones por todo el municipio. El problema radica en que en el transcurso del tiempo se ha observado resistencia por parte del vector, lo que conlleva a que ya no sean susceptibles al tipo de insecticidas empleados y por lo tanto estos pierdan efectividad.

Por tal razón este proyecto de investigación busca aprovechar las propiedades que presentan los hidrogeles de quitosano al ser biodegradables y no tóxicos, para desarrollar un producto que sea capaz de liberar de forma controlada un larvicida comercial para ser empleado en el control de vectores del dengue. Además de esto, se busca tener un impacto menos negativo sobre el medio ambiente,

aumentar la efectividad de estos compuestos sin la necesidad de realizar constantes aplicaciones del producto.

MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

El dengue y el mosquito *Aedes aegypti*.

El mosquito *Aedes aegypti* es una especie de artrópodo tropical y subtropical que se encuentra distribuido por todo el mundo y es el principal vector transmisor de los virus que pueden causar enfermedades como el dengue y el chikungunya (WHO, 2009). El virus que produce el dengue es un arbovirus del género flavivirus y presenta cuatro serotipos (Den-1, 2, 3 y 4), es un virus de RNA que presenta una membrana compuesta por glicoproteínas que determinan como modifica el comportamiento inmunológico en el ser humano (González V, 2006).

Estos virus son transmitidos por la picadura del mosquito hembra, la cual adquiere el virus cuando se ha alimentado de un individuo humano ya infectado. El virus infecta principalmente el intestino medio del mosquito extendiéndose a las glándulas salivales del mismo, luego de un periodo de incubación de aproximadamente 8 a 12 días, el virus puede ser transmitido al hombre cuando el mosquito vuelva a alimentarse o picar (WHO, 2009). En las últimas décadas ha habido un creciente aumento de la incidencia del dengue, donde la OMS calcula que por año se producen de 50 a 100 millones de infecciones en el mundo.

El ciclo de vida del mosquito se caracteriza por ser de tipo holometábo, es decir que sufren una transformación completa la cual presenta cuatro estadios: huevo, larva, pupa y adulto (Figura 1). Las primeras tres etapas son estadios acuáticos y el último la etapa aérea (Lopez Montenegro, 2012). Los huevos son depositados por las hembras en las paredes de los depósitos de agua hasta que ocurre la eclosión; seguido a esto comienza el estadio de larva, el cual se divide en tres etapas donde ocurre el crecimiento y la alimentación de la larva, y es en sí la etapa más vulnerable del ciclo; la etapa siguiente es la etapa de pupa, en donde espera en reposo hasta que emergen a la superficie, para desarrollar su etapa adulta. En este último estadio, el mosquito ya es adulto y puede volar; y está listo para comenzar a reproducirse (Elman, Introini, & Ripoll). Es importante tener en cuenta que la duración de cada etapa del ciclo de vida va a depender de los cambios climáticos, presión y temperatura a los que se somete y la disponibilidad de alimento (Vargas Vargas, 1998).

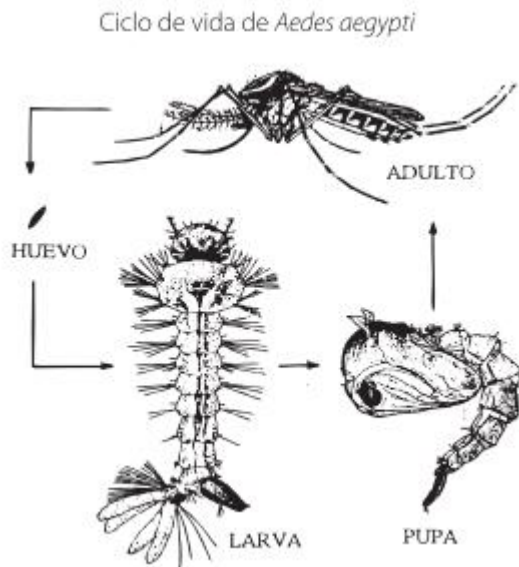


Figura 1. Ciclo de Vida del Mosquito *Aedes Aegypti*

Conocer la estructura de su exoesqueleto ha sido importante para el desarrollo de nuevo larvicidas; se sabe que su estructura está compuesta por una cutícula de quitina, un polisacárido formado por unidades de N-acetilglucosamida unidas por enlaces β (1-4) (Figura 2) (Yufera, 2007) y la cual es secretada por la epidermis del insecto y es la que brinda soporte a los órganos (Chapman, 1998). Ya se han descubierto compuestos inhibidores de la síntesis de quitina y se ha observado que afectan el desarrollo de algunos insectos, por lo que son una nueva propuesta para ser empleados como larvicidas, además de no ser tóxicos para otras especies.

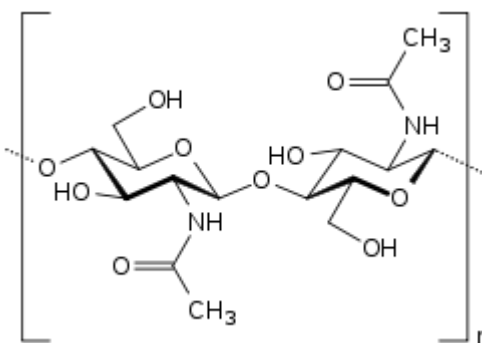


Figura 2 Estructura química de la Quitina

Larvicidas empleados para el control de crecimiento del vector del dengue

Los programas utilizados para el control de crecimiento del vector transmisor se dividen en métodos químicos y no químicos que permiten reducir el índice de transmisión del virus. Los métodos no químicos son principalmente aquellas actividades que impiden su desarrollo, tales como el vaciado y limpieza de fuentes que contengan agua represada que son un hábitat propicio para la colocación de los huevos y su posterior desarrollo acuático. Por otro lado los métodos químicos consisten en el uso de insecticidas (larvicidas) que atacan las distintas etapas del ciclo de vida del vector (WHO, 2009). Sin embargo, el uso de insecticidas se ha convertido en un problema grave debido a que la mayoría de estos compuestos son tóxicos para el ser humano y afectan la población de otras especies que pueden ser benéficas para el ecosistema (Devine, Eza, Ogusuku, & Furlong, 2007). Además se ha observado que los mosquitos presentan resistencia a muchos de estos compuestos y por lo tanto la efectividad se ve afectada por consecuencia de la baja susceptibilidad a la dosis estipulada. (Ministerio De la Protección Social).

Un estudio realizado en 10 regiones de cuatro departamentos del suroccidente Colombiano (Figura 3), dirigido por el CIDEIM (Centro internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas), evaluó la resistencia a algunos insecticidas empleados frecuentes para el control del vector *A. aegypti* tales como: deltametrina, lambdacialotrina, DDT (diclorodifeniltricloroetano), propoxur (Baygon), fenitrotión, malatión y temefós. Se encontró que de los insecticidas más empleados en el país, los mosquitos presentaron mayor resistencia a DDT y Temefós; y aun no se presenta resisten al malatión. De los poco empleados en el país se observó disminución en la susceptibilidad a Lambdacialotrina y Deltametrina, y resistencia a Fenitrotión que se atribuye a una resistencia cruzada. Con respecto al Propoxur que es un insecticida de uso para el hogar, se observó susceptibilidad (Ocampo, Salazar Terreros, Mina, McAllister , & Brogdon, 2011).



Fig. 1. Location of the urban areas evaluated in the study. (A) Valle del Cauca, (B) Cauca, (C) Nariño and (D) Huila (Departments).

Figura 3. Áreas urbanas evaluadas en los diferentes departamentos.

Por lo anterior, es necesario desarrollar compuestos que sean más selectivos, amigables con el medio ambiente y además no tóxicos. Hoy en día se comercializan compuestos químicos conocidos como reguladores del crecimiento de insectos (IGR) y son aquellos que interfieren en algunas vías metabólicas, entre los que se encuentran los inhibidores de la síntesis de quitina y los análogos de la hormona juvenil (Beckage, 2000).

Los inhibidores de la síntesis de quitina incluyen la familia de las benzofenilureas, oxazolinas, tiazolidinas, entre otras (Merzendorfer, 2013). Las benzofenilureas actúan sobre la cutícula del insecto impidiendo la secreción de quitina en el momento de la muda lo que hace imposible sobrevivir a su siguiente estadio (Copping & Hewitt, 1998); el Novaluron un claro ejemplar de este grupo de compuestos (Figura 4), es activo por ingestión y en algunos casos por contacto (Ishaaya, Nauen, & Horowitz, 2007). Se ha demostrado su efectividad sobre el desarrollo larvario del mosquito *A. aegypti* (Farnasi, Brito, Linss, Pelajo-Machado, Valle, & Rezende, 2012) al igual que como control de otros vectores, además de presentar bajos niveles de toxicidad para otras especies (EPA. Environmental Protection Agency, 2001). Varios estudios realizados recomiendan una dosis menor a 0,05 mg/L (WHO, 2008) con una dosis letal en ratas (LD_{50}) > 5000 mg/kg (Ishaaya, Nauen, & Horowitz, 2007), y una LD_{99} de 0,55 ppm (mg/L) (Arrendo Jimenez & Valdez Delgado, 2006)

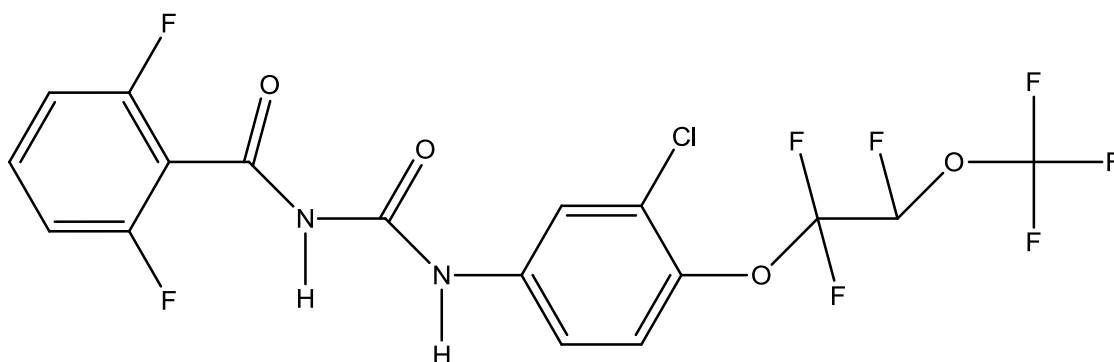


Figura 4. Estructura Química del Novaluron.

Por otra parte, los análogos de la hormona juvenil interfieren en la transformación del insecto desde su estado larvario al estado adulto. Un ejemplo de estos compuestos es el Pyriproxyfen (Figura 5), un regulador de crecimiento de insectos de amplio espectro (WHO, 2004), afectando la morfología, reproducción y embriogénesis de los insectos (Virrereal Salazar, 2012). Posee baja toxicidad en mamíferos con una LD₅₀ de 5000 mg/kg para ratas ((WHO), 2006) y una LD₉₉ 0,05 ppm. La OMS recomienda emplear una dosis no mayor a 0,01 mg/L para el control de vectores transmisores de la fiebre del dengue.

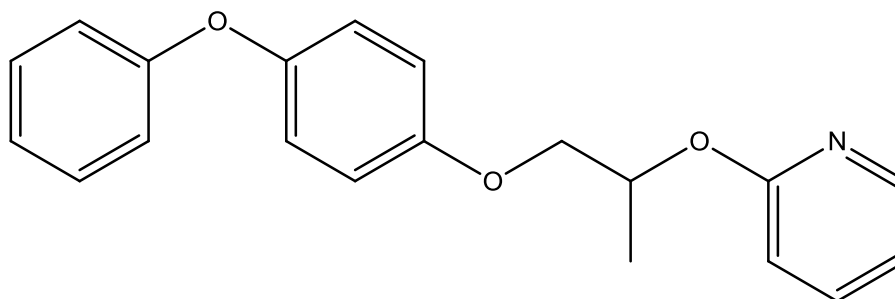


Figura 5. Estructura Química del Pyriproxyfen

Sin embargo, es necesario recordar que los mosquitos se ha vuelto resistentes a otros insecticidas que han sido de uso frecuente para el control del vector transmisor del dengue, lo que conlleva a pensar que es posible ver el mismo resultado a largo plazo por el uso de estos compuestos. Es por esto que se requiere desarrollar nuevas tecnologías que permitan reducir el número de aplicaciones, ya que es uno de los principales factores que permiten la resistencia por parte de los mosquitos.

Los hidrogeles

Los polímeros son moléculas muy grandes constituidas por la unión repetida de estructuras monómericas; según su origen podemos clasificarlos como biopolímeros, polímeros hemi-sintéticos y poliméricos sintéticos, los cuales se obtienen de diferentes maneras. Los Biopolímeros corresponden a sistemas biodegradables y biocompatibles empleados en medicina, en la industria farmacéutica, cosmética y alimenticia, además de ser útiles en productos químicos de aseo y limpieza. Los principales biopolímeros son proteínas, lípidos, y polisacáridos, atractivos por su abundancia y bajo costo.

Por otro lado, los hidrogeles son cadenas poliméricas tridimensionales entrecruzadas entre sí por medio un agente entrecruzante. Se caracterizan por ser hidrófilos, blandos, elásticos, insolubles en agua y por la capacidad de absorber agua e hincharse hasta alcanzar el equilibrio sin disolverse (Arredondo & Londoño Lopez, 2009). La capacidad de absorción de agua se debe a un balance entre las fuerzas osmóticas ejercida por el agua y la cohesividad de las cadenas del hidrogel que se oponen al hinchamiento (Katime, Katime, & Katime, Materiales inteligentes: Hidrogeles Macromoleculares. Algunas aplicaciones biomedicas, 2005); al igual que dependen del método de síntesis del hidrogel.

Hoy en día los hidrogeles son ampliamente utilizados en la industria farmacéutica y agrícola para la liberación controlada de medicamentos y pesticidas, debido a que son materiales capaces de responder a estímulos químicos, físicos y eléctricos del medio (fotones, electrones, pH, temperatura). Su capacidad de hincharse permite que la liberación de los compuesto sea por difusión simple, disminuyendo así la cantidad del fármaco o larvicida dentro del hidrogel (Figura 6) (Romero, 2011).

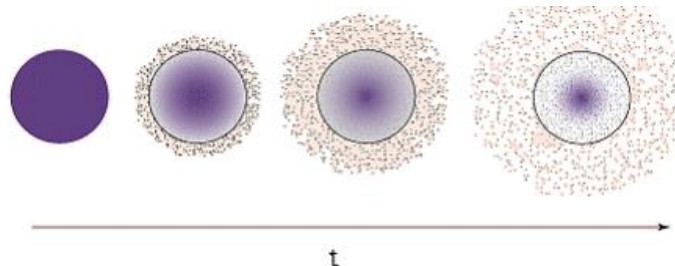


Figura 6. Sistema de liberación controlada de un hidrogel. (Romero, 2011)

En medicina, su gran utilidad se debe a la capacidad de adsorber agua y a las propiedades de mucoadhesión y bioadhesivas de los hidrogeles que permiten al

fármaco tiempos de residencia gástrica prolongadas y mayor permeabilidad a tejidos (Btharrai, Gunn, & Zhang, 2009). En los cultivos agrícolas se han empleado para mantener la efectividad de los plaguicidas controlando la concentración de estos en los cultivos, emplear menos plaguicida y reducir las constantes aplicaciones (Rojas, Moya, Sibaja, Ruepert, & Vega-Baurdrit, 2004).

El quitosano

El quitosano (Figura 7), es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa y se obtiene de la desacetilación de la quitina (Esquema 1) la cual se extrae de crustáceos, moluscos, la cutícula de insectos y de la pared celular de ciertos hongos lo que lo hace un polímero atractivo para muchas industrias (Valderruten, Valverde, Zuluaga, & Ruiz Durántez, 2014) tales como la agricultura, la farmacéutica y la alimentaria. El quitosano es empleado para la formación de hidrogeles para ser usados como matrices de liberación controlada de medicamentos e insecticidas, gracias a que son biocompatible, biodegradables y no tóxicos. Se espera que sirva como una matriz para la liberación controlada de larvicidas empleados para el control de crecimiento de vectores transmisores de enfermedades como el dengue.

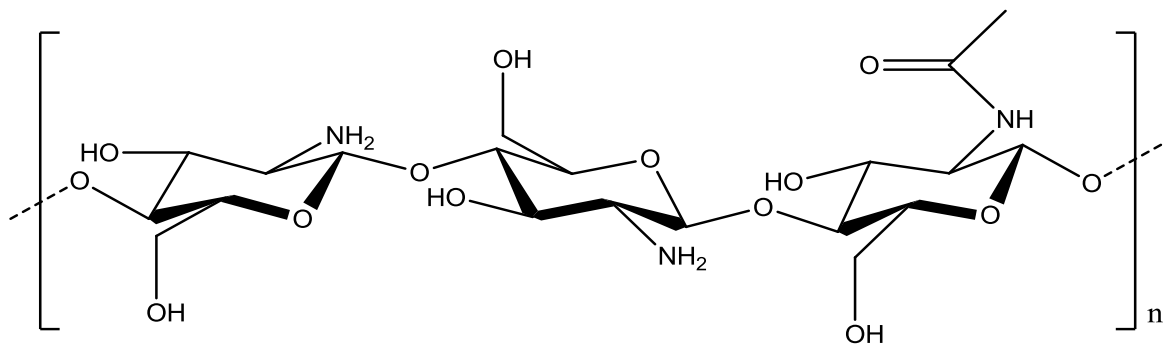
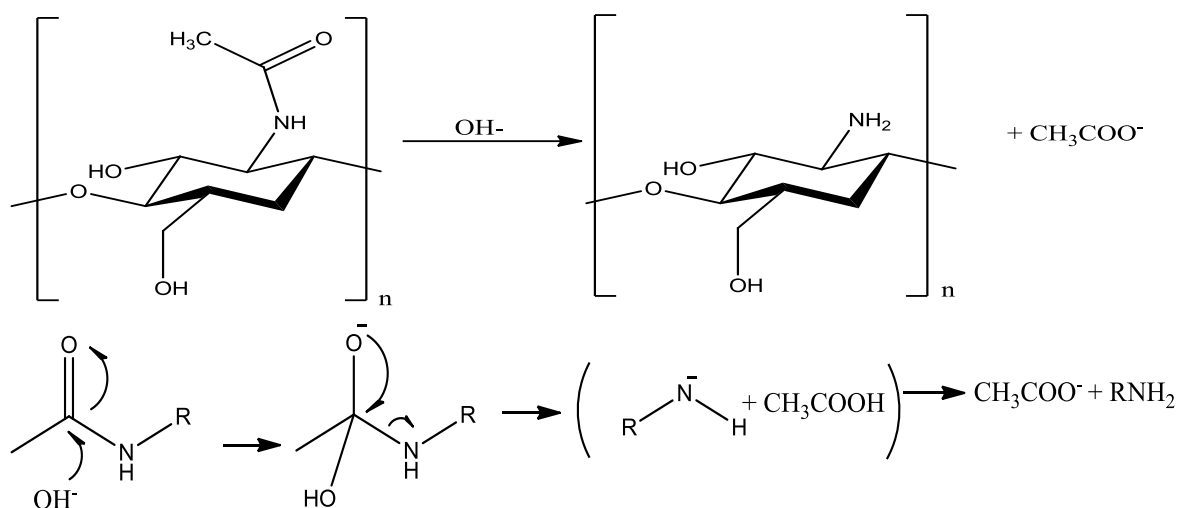
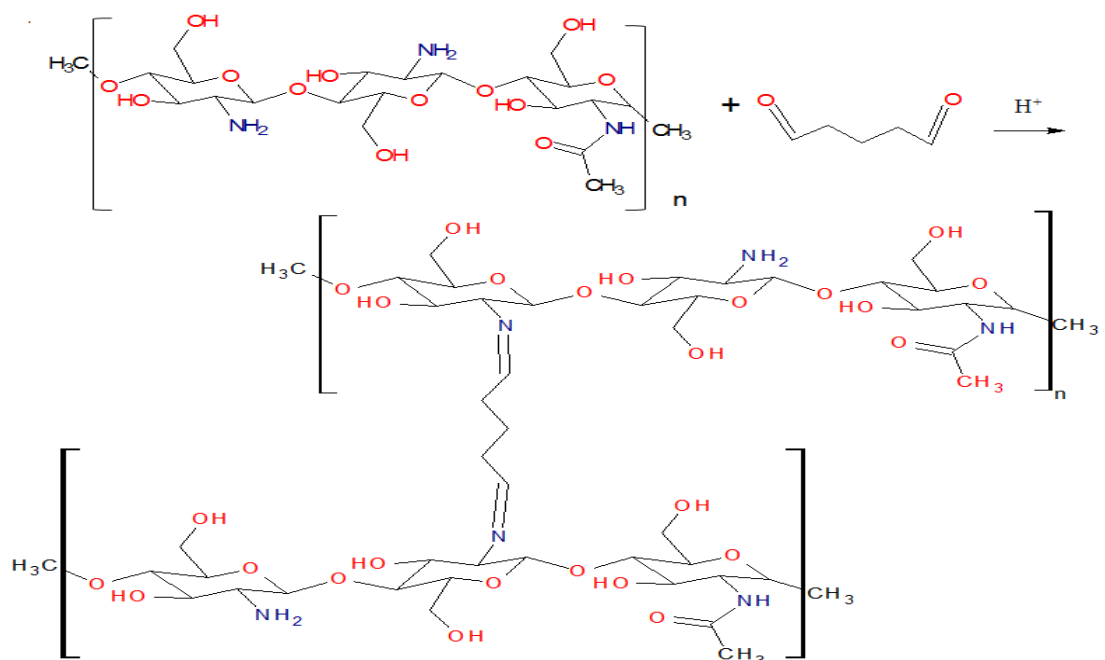


Figura 7. Estructura química del quitosano.



Esquema 1. Reacción de desacetilación del quitosano, y su mecanismo de reacción.

Para la obtención de los hidrogeles de quitosano se emplean moléculas bifuncionales como agentes entrecruzantes, entre los que se encuentra el glutaraldehído. El glutaraldehído es un dialdehído que forma un enlace covalente con las aminas primarias presentes en el quitosano por medio de una adición nucleofílica, dando como producto la formación de una imina (Esquema 2) (Sánchez , Sibaja, Vega-Baudrit, & Madrigal, 2007)



Esquema 2. Reacción para la síntesis del hidrogel de quitosano

OBJETIVOS

Objetivo General

Obtener y caracterizar fisicoquímicamente una matriz polimérica biodegradable cargada con un larvicida comercial para el control de vectores del dengue.

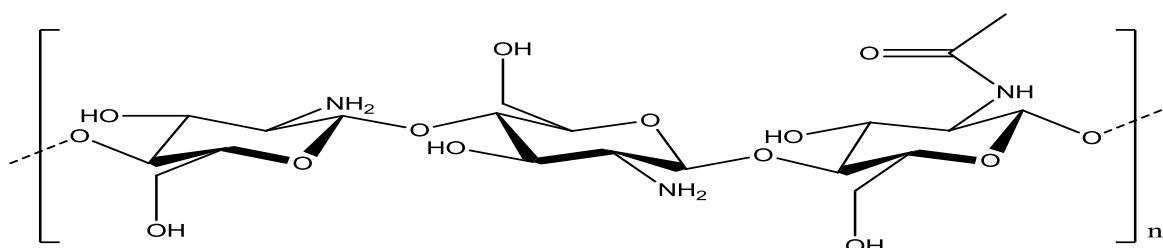
Objetivos Específicos

- Sintetizar hidrogeles a partir de quitosano e incluir dos larvicidas comerciales en la matriz polimérica.
- Caracterizar el hidrogel cargado con el larvicida a través de estudios espectroscópicos (IR) y térmicos (DSC).
- Evaluar las propiedades de hinchamiento del material sintetizado.

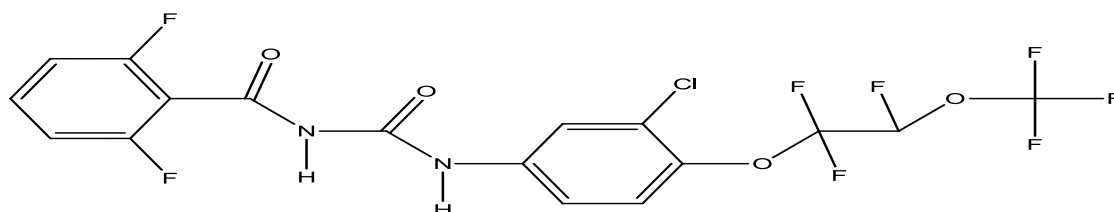
MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

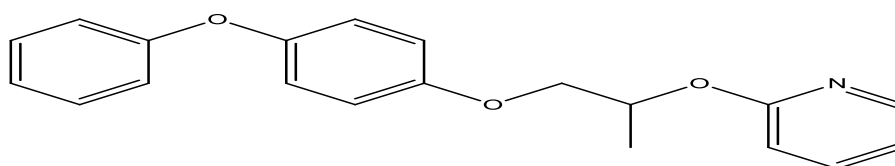
Quitosano (de bajo peso molecular, Sigma, > 98%, grado de desacetilación 80%), Glutaraldehido (J. T. Baker, 25%), ácido acético glacial (J. T. Baker, grado reactivo, 99,7%) Novaluron (Makhteshim, mosquirron al 10%) y Pyriproxyfen (Valent BioSciences 10%).



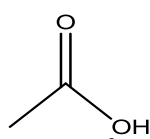
a. Quitosano



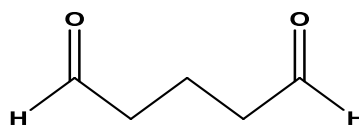
b. Novaluron



c. Pyriproxyfen



d. Ácido acético



e. Glutaraldehido

Figura 8. Estructuras químicas del a). Quitosano, b). Novaluron, c). Pyriproxyfen, d). Ácido acético y e). Glutaraldehído.

Soluciones y reactivos

Para la síntesis de los materiales se preparó una solución de quitosano al 3% a partir de una solución de ácido acético al 2%. También se preparó un mix, el cual consiste en una mezcla de larvicida y agua. Para el entrecruzamiento se preparó una solución de glutaraldehído al 2,5%.

Síntesis del hidrogel de quitosano e inclusión del larvicida.

La preparación del mix se llevó a cabo en un tubo ependorf, en donde se adicionó la cantidad de larvicida, Novaluron y Pyriproxyfen necesaria para obtener una concentración final de 0,55 ppm y 0,05 ppm respectivamente (valores de la DL₉₉ de cada larvicida); y por último, la cantidad de agua suficiente para completar el volumen de la solución total.

La síntesis de los materiales se realizó en Beaker de 25 ml, se disolvió el mix en 10 mL de la solución de quitosano al 3%, luego se adicionó la cantidad necesaria de la solución de glutaraldehído al 2,5% para lograr el entrecruzamiento deseado. Posteriormente, se agitó en un vortex hasta obtener un gel homogéneo, se desgasificó en el sonicador durante 10 segundos para eliminar las burbujas en el material y se procedió a llenar los moldes con el gel. Se dejó reaccionar por 24 horas a temperatura ambiente y posterior a esto se cortó el material en discos de 10 mm de diámetro con un espesor de 3 mm con la ayuda de un sacabocado y se dejaron a temperatura ambiente hasta quedar completamente seco. Por último, se llevó a un horno a 50 °C por otras 24 horas para eliminar cualquier humedad y evaporar el reactivo que no haya reaccionado.

Con el fin de evaluar la influencia del grado de entrecruzamiento en los hidrogeles se realizó la síntesis con tres grados de entrecruzamiento (25, 50 y 75% de agente entrecruzante) Las tablas 1 y 2 muestran los valores necesarios para la síntesis de cada hidrogel.

Tabla 1. Composición de los hidrogeles de quitosano cargados con Novaluron

				Mix	
Grado de entrecruzamiento	Vol. final (mL)	Vol. de s/n de quitosano (mL)	Glutaraldehído 2,5% (µL)	Agua (µL)	Larvicida (Novaluron) (µL)
25 %	11	10	702	272,4	25,6
50 %	12	10	1400	572	28,0
75 %	13	10	2110	860	30,3

Tabla 2. Composición de los hidrogeles de quitosano cargados con Pyriproxyfen

				Mix	
Grado de entrecruzamiento	Vol. final (mL)	Vol. de s/n de quitosano (mL)	Glutaraldehído 2,5% (µL)	Agua (µL)	Larvicida (Pyriproxyfen) (µL)
25 %	11	10	702	887	2,76
50 %	12	10	1400	597	2,54
75 %	13	10	2110	296	2,33

Tabla 3. Composición de los hidrogeles de quitosano sin larvicida

Grado de entrecruzamiento	Vol. final (mL)	Vol. de s/n de quitosano (mL)	Glutaraldehído 2,5% (µL)
25 %	11	10	702
50 %	12	10	1400
75 %	13	10	2110

Estudios de FT-IR

La formación del hidrogel y la incorporación de los larvicidas se estudiaron mediante un espectrofotómetro de FTIR Thermoscientific modelo Nicolet 6700, empleando pastillas de KBr con los hidrogeles pulverizados, empleando la región media del infrarrojo (400 a 4000 cm^{-1}). Se realizó el estudio de los componentes del hidrogel por separado (quitosano y larvicidas), para confirmar la formación del xerogel a partir de los grupos funcionales característicos de cada componente y de las interacciones entre ellos.

Caracterización por DSC (Calorimetría diferencial de barrido)

Las propiedades térmicas se determinaron por el método de calorimetría diferencial de barrido (DSC) donde se midió la diferencia en el flujo de calor entre el hidrogel sintetizado y una referencia en función de la temperatura. (Skoog, Holler, & Crouch, 2008).

Estas propiedades se estudiaron utilizando un DSC TA Instruments modelo Q2000. Las muestras fueron analizadas bajo una atmósfera de nitrógeno. Se realizaron tres barridos, el primero de -50 a 220°C, el segundo de 220 a -50°C ambos con el fin de borrar la historia térmica de los materiales, y un tercer barrido de -50 a 220°C para observar las diferentes transiciones que puedan suceder dentro del material. Todos estos ciclos se realizaron a una velocidad de calentamiento de 10°C/min. Las muestras analizadas fueron para cada uno de los xerogeles cargados con Novaluron y Pyriproxyfen y sin larvicida para cada grado de entrecruzamiento, dando un total de 9 muestras analizadas.

Cinética de hinchamiento del hidrogel.

Las cinéticas de hinchamiento se realizaron en agua desionizada con un pH de 6,9 a una temperatura de 26°C (temperatura óptima para el crecimiento del mosquito). Se realizó la medición del pH y la temperatura de varias fuentes de agua (Desionizada, agua del grifo, y sumideros) donde los resultados fueron similares

para el valor de pH y temperatura, por lo que no se evaluó la influencia del pH y temperatura sobre la capacidad de captar agua.

Se utilizaron xerogeles con un diámetro de 4 mm y 1 mm de espesor. El estudio se realizó por triplicado para cada uno de las muestras (sin larvicida, Pyriproxyfen y Novaluron) y para cada grado de entrecruzamiento (25, 50 y 75%). para esto se pesó cada una de las muestras y se depositaron en recipientes plásticos individuales que contenían 100 mL de agua. Las muestras se pesaron cada 5 minutos durante la primera media hora, cada 10 minutos hasta completar 100 minutos, cada 20 minutos hasta completar 260 minutos y por ultimo cada media hora hasta completar 470 minutos para un total de 8 horas, donde se observó el equilibrio en el hinchamiento.

El grado de hinchamiento W , se puede definir por la siguiente ecuación:

$$W = \frac{m_t - m_0}{m_t} \times 100 \quad (\text{Ecuación 1}).$$

Donde m_t y m_0 son las masas o pesos de las muestras hinchadas y secas, respectivamente. También se evaluó el contenido de agua en el hidrogel, H , representada en la siguiente ecuación:

$$H = \frac{m_t - m_0}{m_0} \times 100 \quad (\text{Ecuación 2}).$$

Donde m_t y m_0 son las masas o pesos de las muestras hinchadas y secas, respectivamente. Cabe mencionar que los resultados se presentan como un promedio de las mediciones tomadas.

Con el propósito de identificar de forma corto y simple los materiales, se utilizaron las siguiente abreviaciones: Hidrogeles de quitosano al 50% (Q50%), hidrogeles de quitosano al 75% (Q75%), hidrogeles de quitosano cargados con Pyriproxyfen al 50% (QP50%), hidrogeles de quitosano cargados con Pyriproxyfen al 75% (QP75%), hidrogeles de quitosano cargados con novaluron al 50% (QN50%), e hidrogeles de quitosano cargados con novaluron al 75% (QN75%).

Matriz marco lógico.

Tabla 4. Matriz de marco lógico

OBJETIVO GENERAL			
Obtener una matriz polimérica biodegradable cargada con un larvicida comercial para el control de vectores del dengue.			
OBJETIVOS ESPECIFICOS	ACTIVIDADES	SUPUESTOS	INDICADOR
Sintetizar hidrogeles a partir de quitosano e incluir dos larvicidas comerciales en la matriz polimérica	<p>Seleccionar reactivos y larvicidas para la síntesis.</p> <p>Determinar la concentración de larvicida a emplear (DL99)</p> <p>Realizar síntesis con 3 grados de entrecruzamiento (25, 50 y 75% de glutaraldehído) del polímero.</p>	<p>Disponibilidad de reactivos y larvicida para la síntesis.</p> <p>Homogenización del sistema.</p>	Obtención del hidrogel.
Caracterizar el hidrogel cargado con el larvicida a través de estudios de FTIR y DSC.	Solicitar los equipos para los estudios de FTIR y DSC, y realizar las respectivas mediciones.	Contar con los equipos de DSC e FTIR en buen estado.	Comportamiento térmico a través de los estudios de DSC, grado de interacción del larvicida y el hidrogel por medio de los estudios de IR.
Evaluar las propiedades de hinchamiento del material sintetizado.	Realizar estudios del grado de hinchamiento del hidrogel a 26°C y pH 6,9.	Controlar la temperatura del laboratorio.	Comportamiento del hidrogel a las condiciones determinadas representadas en una gráfica: grado hinchamientos vs tiempo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de los hidrogeles

Se sintetizaron tres tipos de hidrogeles de quitosano: uno de ellos sin larvicida utilizado como control(Q) y otros dos cargados con Novaluron(QN) y Pyriproxyfen (QP), cada uno con tres grados de entrecruzamiento (25, 50 y 75%) para un total de nueve materiales. Los materiales presentaron una coloración café clara al inicio de la reacción, después de secarlos se observó un color café mucho más oscuro. También hubo una diferencia significativa en el color de los materiales QN, ya que estos eran opacos, a diferencia de los QP los cuales eran más brillantes y parecidos a los controles.

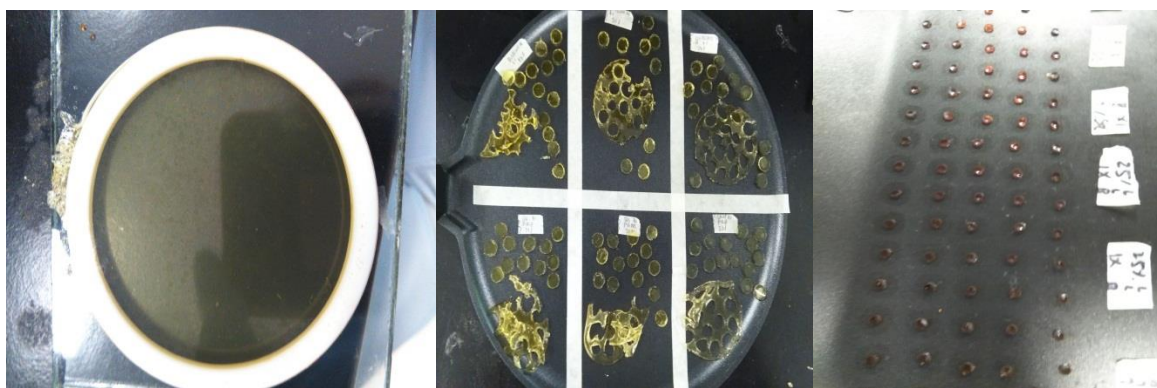


Figura 9. Hidrogeles de quitosano obtenidos

Espectroscopia Infrarroja (FT-IR)

Para comprobar la formación de la red entrecruzada, se tomaron espectros de FT-IR a los tres tipos de material obtenidos y se comparó con un espectro de quitosano. También se tomaron los espectros de los estándares de los larvicidas empleados (Novaluron y Pyriproxyfen) y se compararon con los espectros de los materiales sintetizados, con el fin de observar señales o bandas que confirmen la inclusión de los larvicidas.

En la figura 10, se observan los espectros de infrarrojo de Q, QP y QN, respectivamente. Para el espectro de Q, se observa una banda a aproximadamente a 1650 cm^{-1} que corresponde a un enlace imina ($\text{N}=\text{C}$), lo que

confirma la formación del entrecruzamiento entre el grupo amino del quitosano y el grupo aldehído del glutaraldehído. De estas mismas ilustraciones se pueden observar bandas características del quitosano, tales como la banda a 3400 cm^{-1} que pertenece al estiramiento de los grupos O-H y a la vibración de estiramiento de los grupos N-H (amida y amina) que debido al ensanchamiento de la banda este se ve solapada. También se observan bandas a 1560 cm^{-1} que corresponde a la vibración de los grupos N-H (banda amida II) y a 2900 cm^{-1} que corresponde al estiramiento -C-H, la banda del enlaces glucosídicos a 1075 cm^{-1} (C-O-C), enlace N-C a 1025 cm^{-1} . Estas mismas señales se observaron para los espectros de QP y QN, lo que nos indica que en todos los materiales se obtuvo el entrecruzamiento del quitosano con el glutaraldehído de forma satisfactoria.

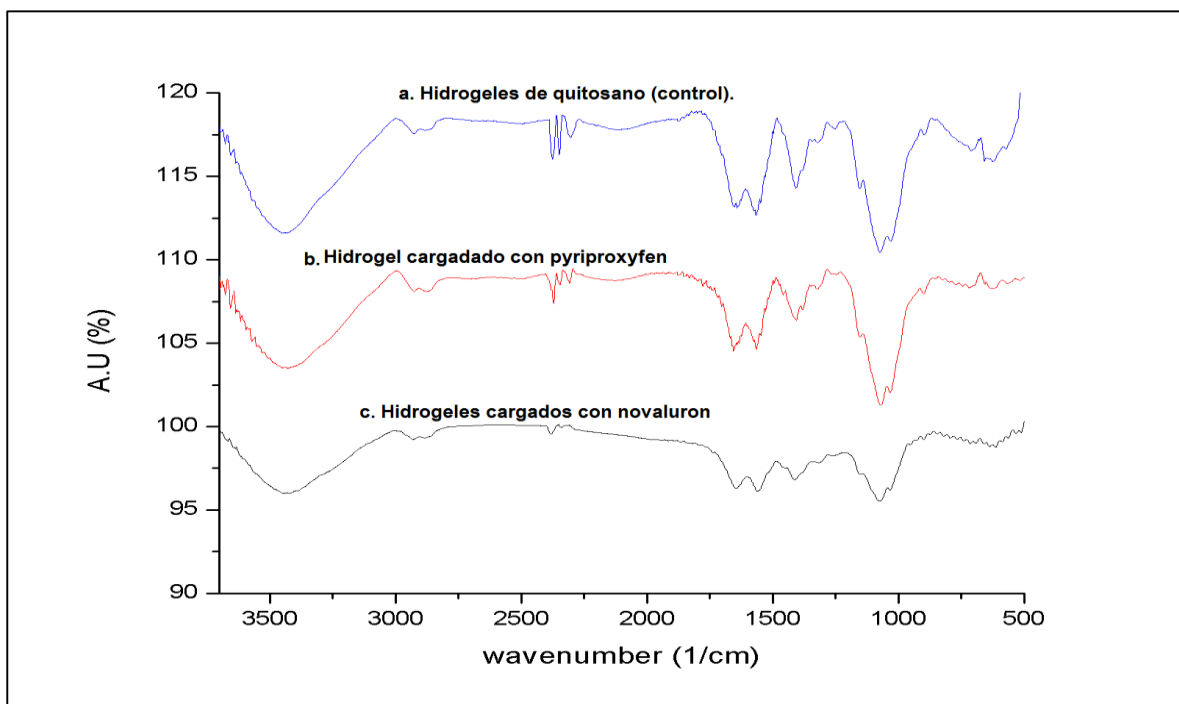


Figura 10. Espectros FT-IR de: a) hidrogeles de quitosano (control). B) hidrogeles de quitosano cargados con Pyriproxyfen (QP). C) hidrogeles de quitosano cargados con novaluron (QN).

En la figura 11 se puede observar el espectro FT-IR del estándar de Novaluron, aquí se puede identificar una banda a 3200 cm^{-1} la cual corresponde al estiramiento de los grupos N-H, se pueden observar una banda a 3129 cm^{-1} que corresponde al estiramiento C-H del anillo aromático y dos señales a 1597 y 1546 cm^{-1} que pertenecen al estiramiento de los enlaces C=C, una banda a 1691 cm^{-1} que corresponde al estiramiento de los grupos carbonilos (RC=O). También se

observó una banda a 2963 cm^{-1} que corresponde al estiramiento del enlace -C-H, las bandas a 1400 cm^{-1} que pertenecen estiramiento de los enlaces C-F y la banda a 1184 cm^{-1} la cual pertenece al estiramiento del enlace C-F del anillo aromático. Si comparamos con el espectro de los hidrogeles cargados con novaluron (figura 10B), se puede evidenciar el solapamiento de algunas bandas características del novaluron, por lo que no es posible identificarlas en el espectro.

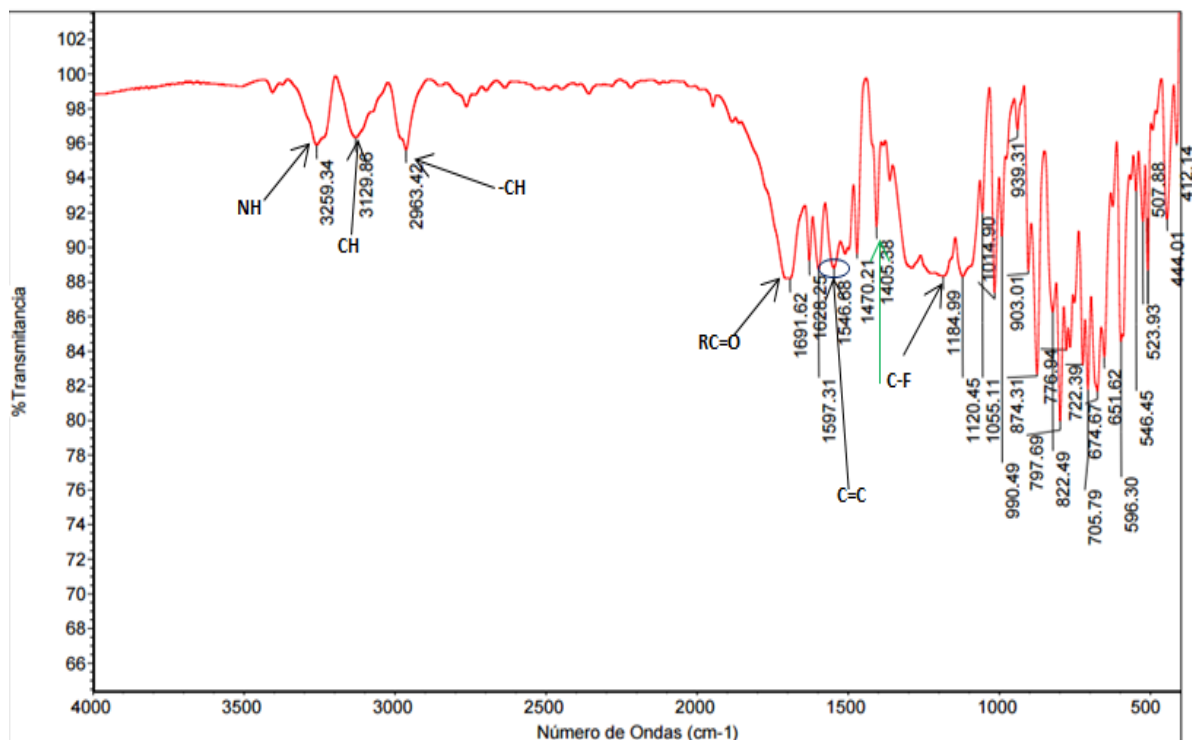


Figura 11. Espectro FT-IR de una muestra estándar de Novaluron

El espectro infrarrojo del estándar de pyriproxyfen se observa en la figura 12, aquí se pueden identificar las bandas características de este compuesto: una banda a 3100 cm^{-1} de baja intensidad, corresponde al estiramiento de los enlaces C-H del anillo aromático tanto de los bencenos como de la piridina, las bandas a 2966 cm^{-1} y 2869 cm^{-1} asignadas al estiramiento de los enlaces -C-H, una señal a 1692 a 1474 cm^{-1} que corresponde al estiramiento del enlace C=N y C=C de los anillos aromáticos, la señal a 1200 cm^{-1} del estiramiento de los enlaces C-O-C.

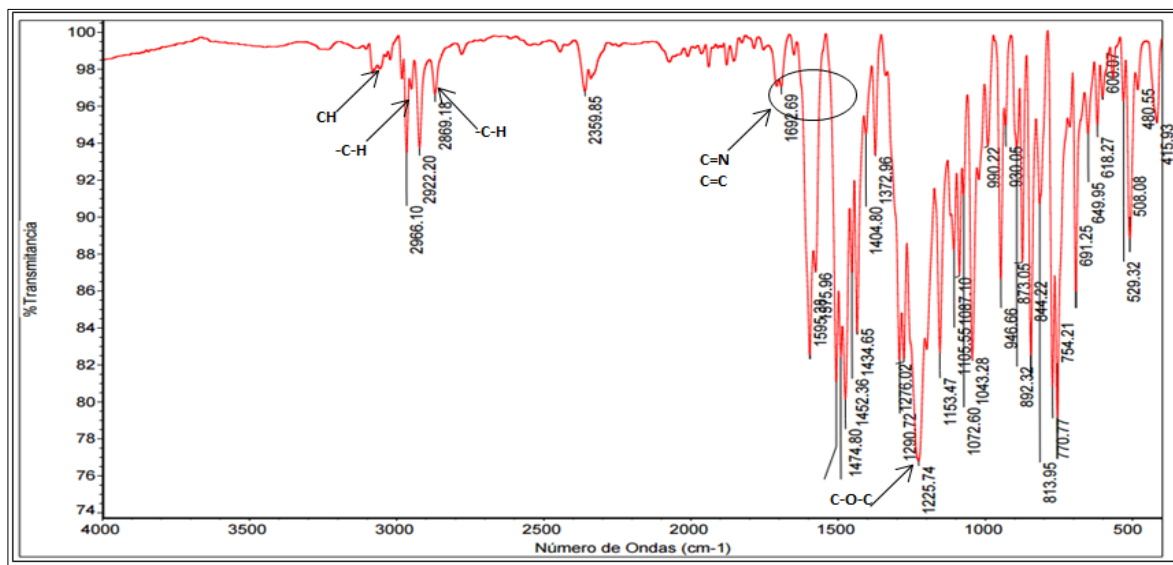


Figura 12. Espectro FT-IR de una muestra estándar de Piryproxifen

Las señales de Novaluron y pyriproxifen no fueron detectadas en los espectros de QN y QP, ya que las bandas en los espectros de cada estándar (figura 11 y 12) presentan baja intensidad, por lo que podrían estar solapadas con las bandas del quitosano. Además se debe tener en cuenta que la cantidad de larvicida empleado en la síntesis de cada hidrogel fue muy pequeña, en términos de ppm; lo que pudo causar que el equipo no detectara las señales.

Calorimetría Diferencial de barrido (DSC)

El análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC), mide el cambio de energía que ocurre cuando una muestra se calienta a la temperatura donde presenta una transición térmica (Gabbott, 2008). Esta técnica permite analizar por medio de termogramas las transiciones térmicas del material, las cuales dependen de la organización estructural del mismo (Villada Morales, 2015).

Las figuras 13, 14 y 15 muestran los termogramas obtenidos del segundo ciclo de calentamiento de cada material: Q, QP Y QN, respectivamente. Este análisis se realizó con el fin de determinar la influencia de los larvicidas en las propiedades térmicas de los materiales, es decir en la temperatura de transición vítrea (T_g).

La Tg es una importante característica del comportamiento de los polímeros, permite identificar las regiones de temperatura donde existen cambios drásticos sobre las propiedades físicas, tales como la dureza y elasticidad, las cuales están relacionadas con la estructura del polímero y la rotación y vibración de las cadenas moleculares (Cowie & Arrighi, 2008). La Tg también depende de la historia térmica de la muestra, es decir la velocidad de enfriamiento y calentamiento que van a determinar el estado vítreo inicial del material (Universidad Carlos III de Madrid, 2015).

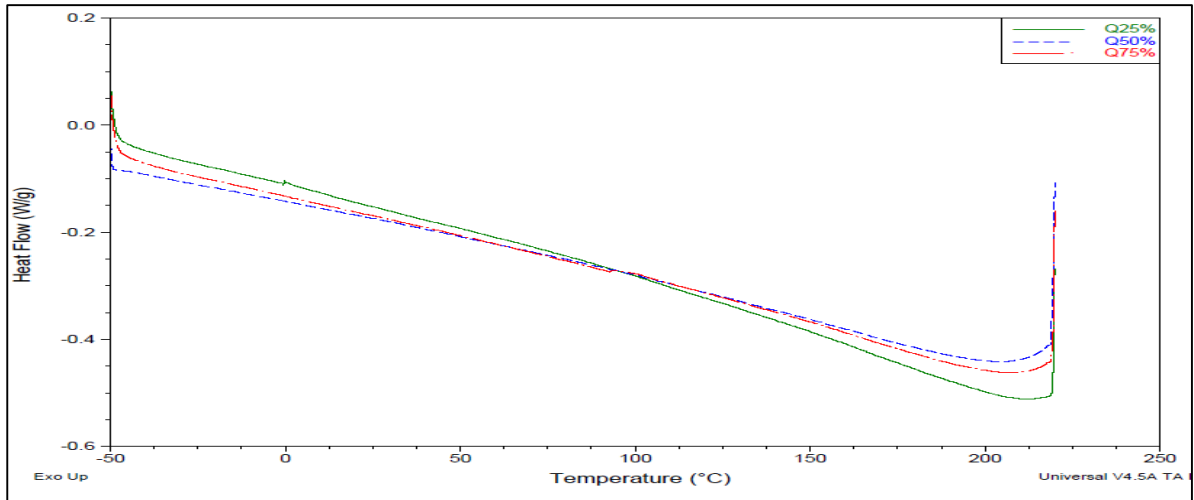


Figura 13. Termograma de Q al 25%, 50% y 75% de entrecruzamiento.

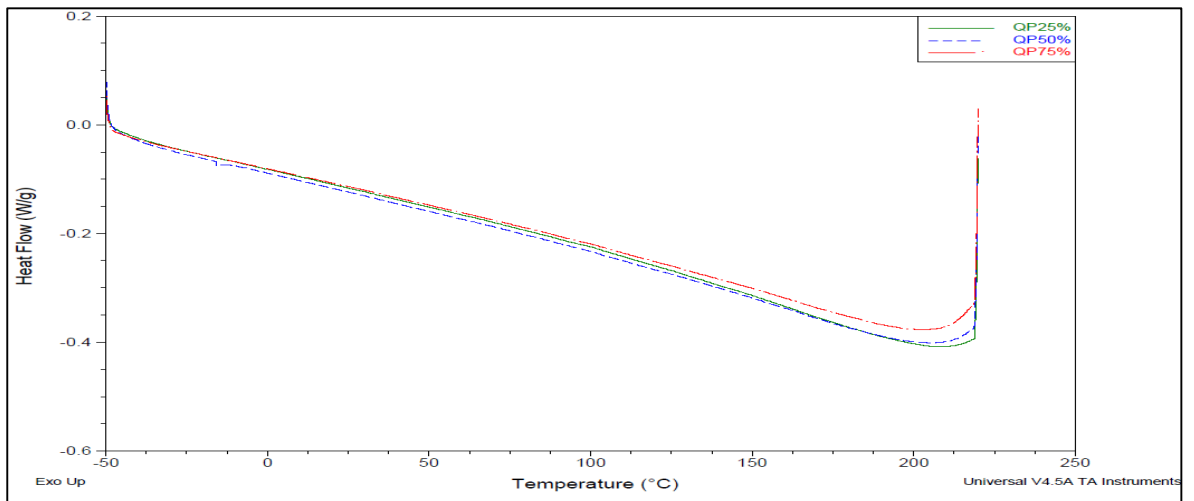


Figura 14. Termograma de QP al 25%, 50% y 75% de entrecruzamiento.

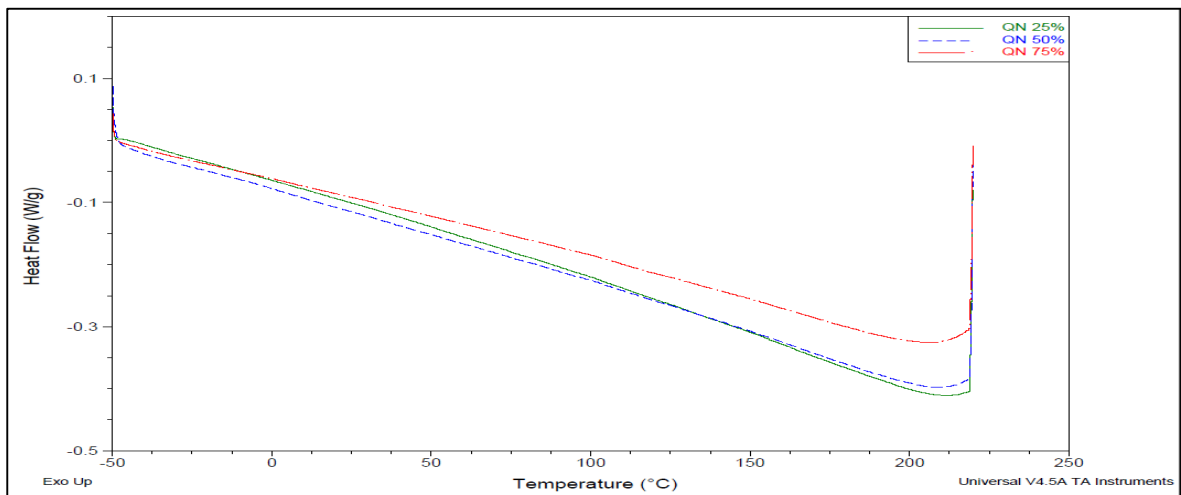


Figura 15. Termograma de QN al 25%, 50% y 75% de entrecruzamiento.

De acuerdo a las ilustraciones anteriores, se puede observar que no es posible identificar la Tg en los termogramas. La Tg se presenta cuando un material polimérico de estructura amorfa pasa de un estado rígido y quebradizo a un estado más blando y maleable (Muñoz Pinto, 2015). La flexibilidad de la cadena polimérica es el factor más importante para la detección de la temperatura de transición (Universidad Carlos III de Madrid, 2015). Debido al entrecruzamiento de los materiales sintetizados, estos presentan una estructura muy rígida que requieren de una mayor energía para la rotación de las cadenas del polímero, es decir valores muy altos de temperatura para alcanzar esta transición, lo que ocasionaría que la red se degradara (Salán Ballesteros, 2005). Por tal razón no fue detectable la Tg en los termogramas de los materiales sintetizados.

Por otra parte, estudios han demostrado que algunas propiedades como la cristalinidad, peso molecular y el grado de desacetilación del quitosano influyen en la detección de la Tg (Neto, Giacometti, Job, Ferreira, Fonseca, & Pereira, 2005). La presencia de microcristales hace más rígida la estructura de la fase amorfa, por lo que la Tg aumenta con el grado de cristalinidad; en relación al peso molecular, polímeros más grandes tenderán a aumentar la Tg, debido que habrá menor volumen asociado (Universidad Carlos III de Madrid, 2015)

Sin embargo, algunos autores han reportado para hidrogeles de quitosano Tgs en intervalos de temperatura que van desde 30 a 203°C lo cual depende del entrecruzante y su proporción, y la concentración de quitosano. (Ratto, Hatakeyama, & Blumstein, 2000) (Rohindra, Nand, & Khurma). Coincidiendo con

lo reportado por Valderruten et al. (2015), y de acuerdo a la estructura de los hidrogeles de quitosano, los termogramas convencionales demuestran que los materiales sintetizados son amorfos, ya que no se encuentra una transición detectable. Por este medio se pudo observar que la presencia de los larvicidas dentro de los hidrogeles no genera alteraciones en las propiedades térmicas del material, y aunque no se han reportado trabajos similares, este comportamiento se puede atribuir a la baja concentración de larvicida empleado como ya se mencionó con anterioridad.

Cinéticas de hinchamiento

Se estudió el comportamiento de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano cargados con Pyriproxyfen y Novaluron con diferentes porcentajes de entrecruzamiento (25, 50 y 75%), comparándolos con un control de quitosano sin larvicida con el mismo grado de entrecruzamiento. Se calculó el porcentaje de hinchamiento (W%) y la cantidad de agua (H%) a cada tiempo del experimento, los cuales se calculan a partir de las ecuaciones 1 y 2.

Es importante mencionar que debido al medio en el que los hidrogeles sintetizados serían empleados (sumideros y alcantarillas), se evaluó la pertinencia de analizar la influencia del pH y la temperatura sobre el grado de hinchamiento de los hidrogeles. Se encontró que la temperatura óptima del crecimiento de los mosquitos se encuentra en un intervalo de 25 a 29°C (Montero, 2009); valores muy cercanos entre sí. Estudios realizados a 26°C y 37°C no mostraron cambios significativos en el grado de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano (91 y 93%, respectivamente) (Beltran Patiño, 2010), por lo que se esperaba que no haya una diferencia significativa en el hinchamiento en el intervalo de 25 a 29°C.

Por otra parte, se midió la temperatura de algunos sumideros de la universidad donde los resultados concuerdan con lo reportado en la literatura (aproximadamente 23 a 25°C), por lo que no se evaluaron los hidrogeles a temperaturas extremas ya que a estas temperaturas el vector no tendría la oportunidad de crecer y el hidrogel no tendría función.

Respecto al pH, se midió el pH de algunos sumideros de la universidad, del agua del grifo y del agua destilada utilizada en el laboratorio; para determinar si existía diferencia significativa entre los valores de pH de estos medios, de tal forma que pudieran afectar el hinchamiento del hidrogel. Se encontró que el pH en todos

estos medios fue de 6.9, por lo que se determinó que no era necesario evaluar la influencia del pH del medio en el hinchamiento de los hidrogeles, teniendo en cuenta que es en este tipo de agua donde se colocarían los hidrogeles.

Por otro lado, se observó que los hidrogeles con entrecruzamiento del 25% tanto para QP, QN como el control, presentaron fracturas durante el hinchamiento al tiempo de 15 minutos, esto pudo ocurrir debido a la baja densidad de entrecruzamiento debido a la baja concentración del glutaraldehído. Durante el hinchamiento las cadenas del hidrogel asumen una configuración estirada, que genera una presión en contra al proceso de hinchamiento, que puede ser derrotada por la presión del agua al ingresar al interior del hidrogel ocasionando la fractura del material. (Escobar, Zaldivar, Aguero, Fernández, & Katime, 2000).

En las figuras 16 se presenta el grado de hinchamiento (W%) para cada uno de los materiales sintetizados, se puede observar que los materiales con porcentaje de entrecruzamiento del 50% presentaron mayor hinchamiento que aquellos con un porcentaje de 75%, tanto para QP como QN. Este mismo comportamiento se puede observar en la figura 17, donde se presenta la cantidad de agua absorbida (H%), aquí se puede observar que los controles tienen mayor capacidad de captar agua en relación a QP y QN, y que el porcentaje de entrecruzamiento también influye en la cantidad de agua que este puede retener. Este comportamiento se atribuye a la formación de una estructura mucho más compacta debido a que hay mayor entrecruzamiento entre las cadenas del polímero y por lo tanto van a tener menor movilidad y menor tamaño del poro (Romero, 2011) lo que dificulta la entrada de agua al hidrogel.

Por otra parte, también se observó una disminución en el grado de hinchamiento de los hidrogeles cargados con Pyriproxyfen y Novaluron respecto al hinchamiento del control, siendo el material con Pyriproxyfen el que mostro mayor porcentaje de hinchamiento. Los resultados se observan a continuación:

Tabla 5. Resultados del grado de hinchamiento de los hidrogeles en el equilibrio

Material	Q50%	Q75%	QP50%	QP75%	QN50%	QN75%
W (%)	57,35	52,27	49,80	44,34	41,96	36,52

Este comportamiento se debe probablemente a la presencia de los larvicidas en el material, ya que pueden interferir en el proceso de hinchamiento. Debido a que no se han encontrado trabajos similares, se propone que el bajo grado de hinchamiento de los hidrogeles cargados con novaluron está asociado al tamaño y peso molecular (492,7 g/mol novaluron) (SIGMA-ALDRICH, 2013) que puede generar desplazamiento del quitosano e impedir el entrecruzamiento entre el polímero y el glutaraldehído. De esta misma forma se pueden ver afectados los hidrogeles cargados con pyriproxyfen aunque en menor grado, ya que el pyriproxyfen tiene un tamaño y peso menor que el Novaluron (321,37 g/mol) (SIGMA-ALDRICH, 2012)

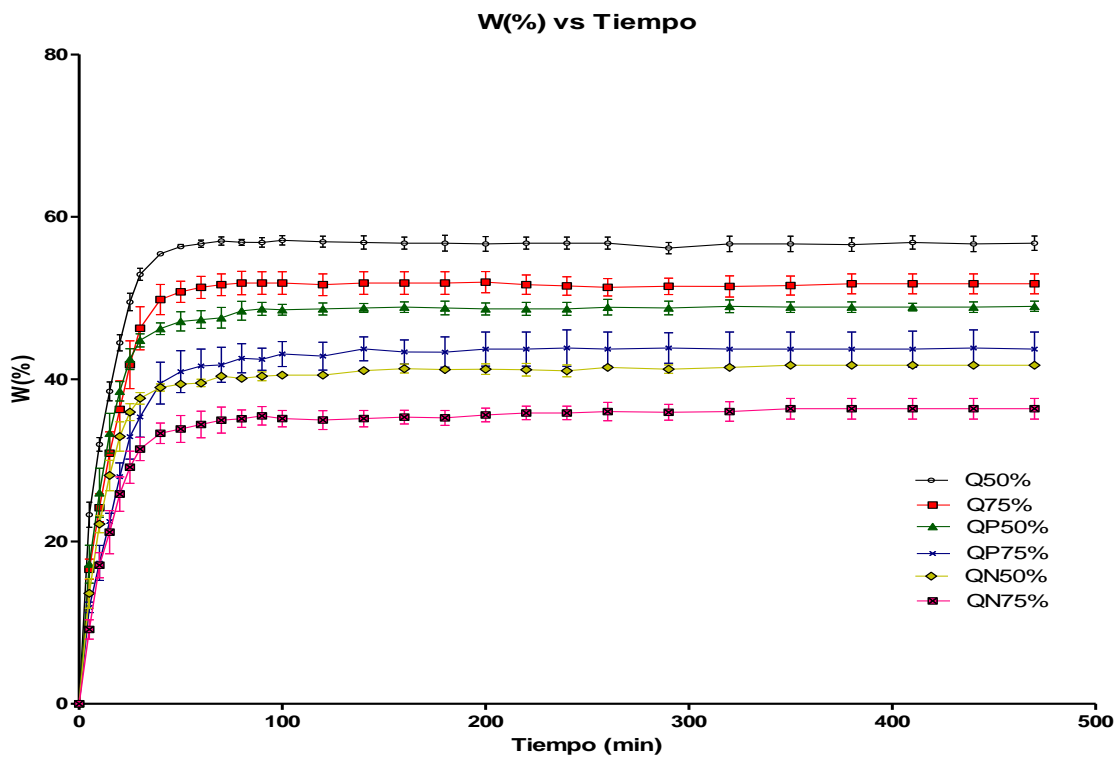


Figura 16 Porcentaje de Hinchamiento de los hidrogeles en función del tiempo, para Q50%, Q75%, QP50%, QP75%, QN50%, y QN75%, respectivamente.

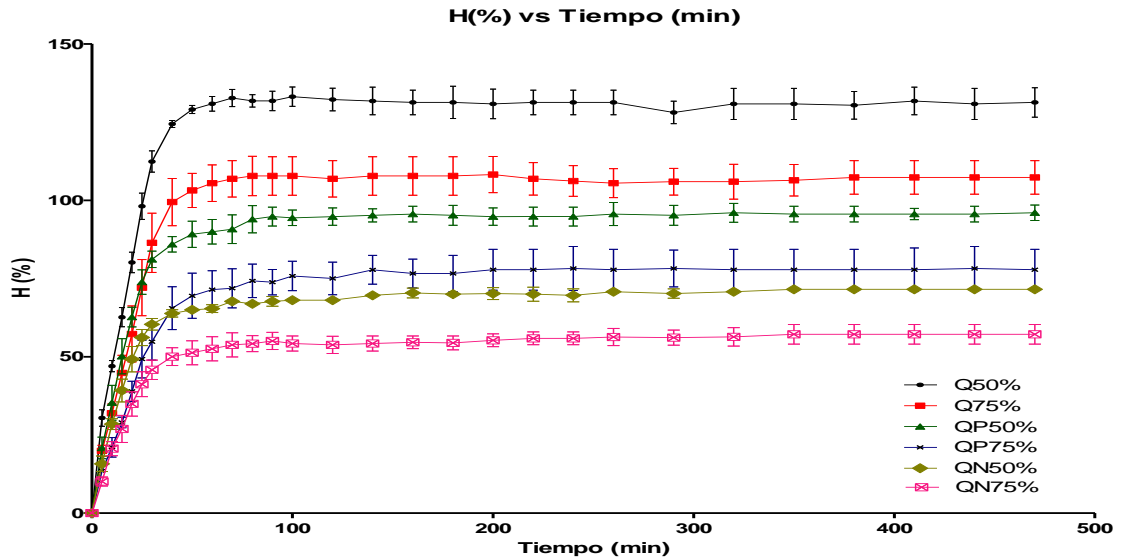


Figura 17. Porcentaje de agua en los hidrogeles en función del tiempo, para Q50%, Q75%, QP50%, QP75%, QN50%, y QN75%, respectivamente.

Una vez obtenido el grado de hinchamiento de los materiales, se determinó el orden de la cinética de hinchamiento de los hidrogeles para así establecer que fenómeno controla el hinchamiento. Para esto, se tiene en cuenta la velocidad de hinchamiento que para orden uno es proporcional la capacidad máxima de hinchamiento, la cual viene representada por la siguiente expresión:

$$\frac{dW}{dt} = -k(W_{\infty} - W) \quad \text{(Ecuación 3)}$$

Que al integrarse:

$$\ln\left(\frac{W_{\infty}}{W_{\infty}-W}\right) = -kt \quad \text{(Ecuación 4)}$$

Donde W_{∞} es la masa o el peso del hidrogel en el equilibrio, k es la constante de la velocidad de hinchamiento y t la variable tiempo. De acuerdo a esto, se graficó $\ln\left(\frac{W_{\infty}}{W_{\infty}-W}\right) = kt$ en función del tiempo y se pudo determinar que el proceso de hinchamiento no sigue una cinética de orden uno ya que no se observó linealidad en los datos (Figura 18), además este comportamiento nos indica que el proceso de hinchamiento de los materiales está influenciado tanto por fenómenos de difusión como de relajación (Beltran Patiño, 2010).

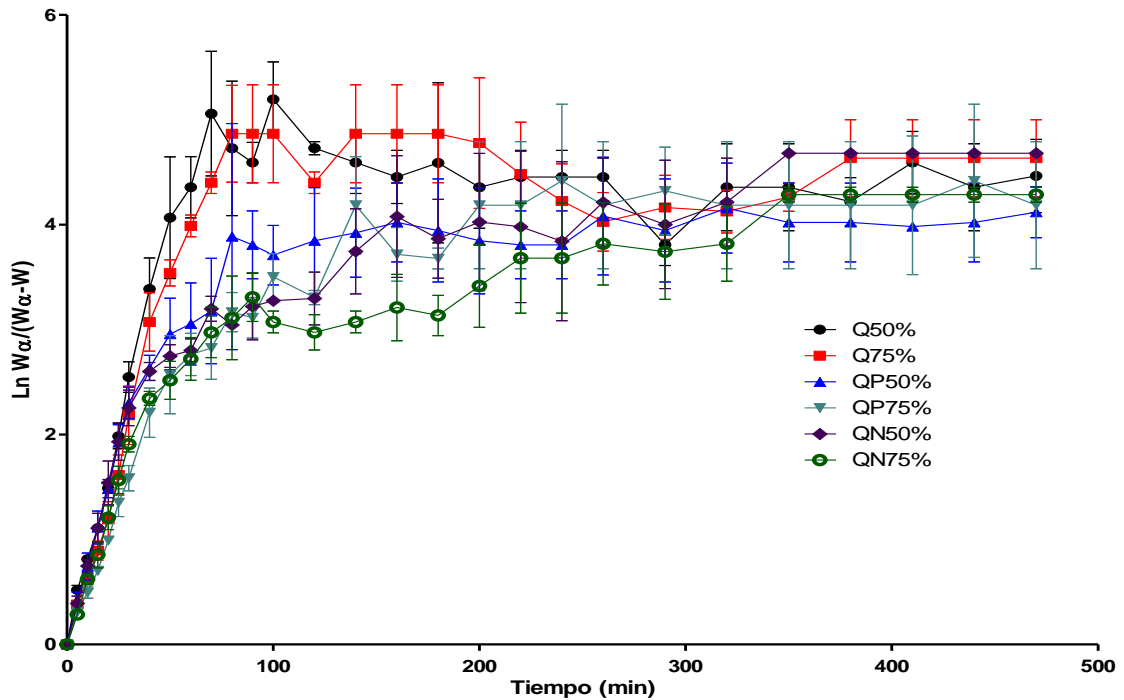


Figura 18. Cinética de orden 1 de los hidrogeles en función del tiempo, para para Q50%, Q75%, QP50%, QP75%, QN50%, y QN75%, respectivamente.

Seguido a esto se procedió a analizar el modelo de Schott's para una cinética de orden dos, la cual se rige por la siguiente expresión (Katime, Katime, & Katime, Material Inteligentes. Hidrogeles Macromoleculares. Algunas aplicaciones Biomédicas., 2005):

$$\frac{dW}{dt} = -k(W_{\infty} - W)^2 \quad (\text{Ecuación 5})$$

Que al integrarse en el intervalo de $t=0$ a $t=\infty$ es decir en el equilibrio, se obtiene:

$$W = \left(\frac{KtW_{\infty}^2}{1+KtW_{\infty}} \right) \quad (\text{Ecuación 6})$$

Si reordenamos la ecuación, se obtiene:

$$\frac{t}{W} = \frac{1}{KW_{\infty}^2} + \frac{t}{W_{\infty}^2}$$

Si tenemos en cuenta que la constante de velocidad en el equilibrio está dada por la expresión $K_{\infty} = KW_{\infty}^2$, se tiene que:

$$\frac{t}{W} = \frac{1}{K_{\infty}} + \frac{t}{W_{\infty}^2} \text{ (Ecuación 7)}$$

Si decimos que $A = 1/K_{\infty}$ y $B = 1/W_{\infty}^2$, la ecuación 5 se puede representar como la ecuación de una línea recta:

$$\frac{t}{W} = A + Bt \text{ (Ecuación 8)}$$

De acuerdo a lo anterior, se graficó $\frac{t}{W}$ respecto al tiempo, donde se pudo observar en la figura 19 la linealidad de los datos con un coeficiente de correlación superior a 0,99 (tabla 6), por lo que se puede afirmar que el hinchamiento de los hidrogeles se ajusta a una cinética de orden dos en el tiempo estudiado y que este comportamiento corresponde a la relajación de las cadenas del polímero (Martínez vasquez, Antonio cruz, Álvarez castillo, Mendoza Martínez, & Morales cepeda, 2007).

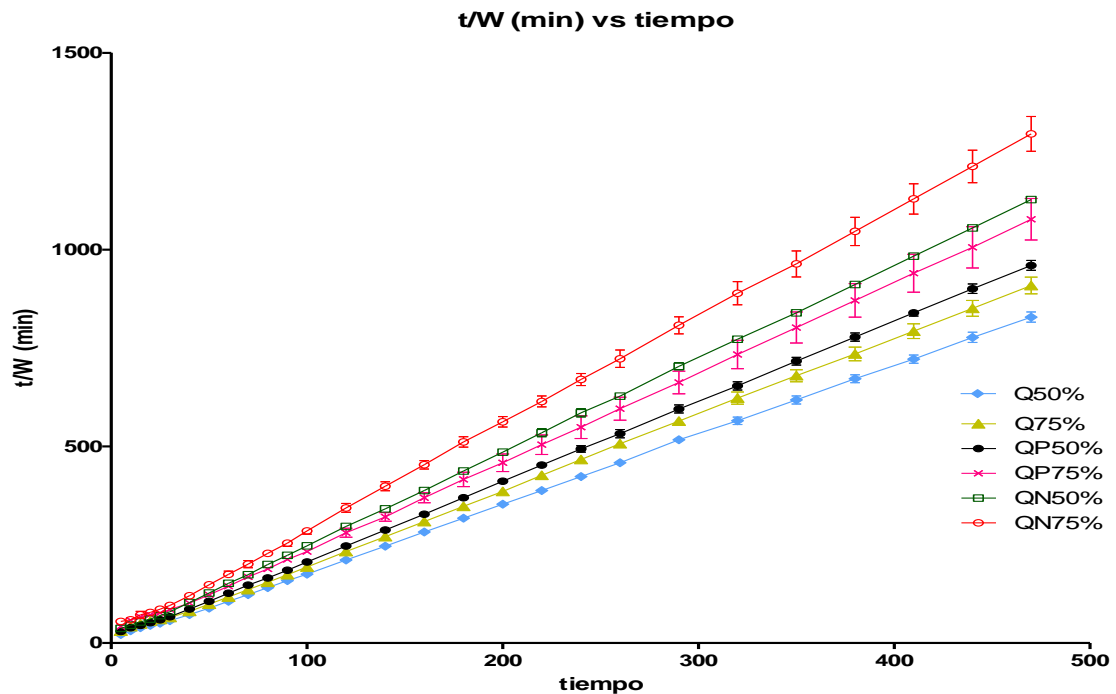


Figura 19. Regresión lineal de las cinéticas de hinchamiento, siguiendo una cinética de segundo orden para Q50%, Q75%, QP50%, QP75%, QN50%, y QN75%, respectivamente.

Tabla 6. Datos de la Constante de cinética de hinchamiento y el porcentaje de hinchamiento en el equilibrio.

Material	R2	W_∞ (%)	K
Q50%	0,9995	57,35	0,187
Q75%	0,9994	52,28	0,175
QP50%	0,9995	49,8	0,189
QP75%	0,9994	44,34	0,161
QN50%	0,9995	41,96	0,202
QN75%	0,9992	36,52	0,199

Para determinar la velocidad de hinchamiento de los materiales, se tuvo en cuenta la constante de la velocidad de hinchamiento, K, la cual de acuerdo a la ecuación 6 depende de la capacidad del material de absorber agua (Ganji, Vasheghani-Farahani, & Vasheghani-Farahani, 2010), como se expresa en la siguiente expresión:

$$K = \frac{1}{A \cdot W_{\infty}^2} \text{ (Ecuación 9)}$$

De acuerdo a lo anterior K se puede determinar a partir del intercepto de la ecuación de la recta arrojada por cada material y el cuadrado del grado de hinchamiento máximo (W_{∞}^2) de cada material sintetizado. La tabla 6 muestran el resultado de la constante de velocidad (K) de cada material, en donde se observa una mayor K en aquellos materiales que contenían Novaluron; esto quiere decir que llegó al equilibrio mucho más rápido que los otros materiales debido a que su capacidad de hinchamiento es menor, lo cual está relacionado al posible desplazamiento que provocan las moléculas de los larvicidas en el material.

De la tabla 6, también se puede notar que los materiales con un entrecruzamiento de 50% presentan mayor constante de velocidad respecto a los materiales entrecruzados al 75%, esto se puede atribuir a que existe menor resistencia al hinchamiento, hay más cadenas del polímero libres, el tamaño del poro es más grande y por ende facilita que el ingreso de agua sea más rápido (Beltran Patiño, 2010); (Romero, 2011).

CONCLUSIONES

La síntesis de los hidrogeles de quitosano cargados con los larvicidas Piryproxifen y Novaluron se llevó a cabo de forma satisfactoria para todos los porcentajes de entrecruzamiento (25%, 50% y 75%), a partir de un proceso de mezclado de todos los componentes y posterior entrecruzamiento. De tal manera que se obtuvo materiales rígidos y de un color café característico de los hidrogeles de quitosano.

Mediante espectroscopia infrarroja (FT-IR) se logró identificar la formación del enlace imina con la aparición de la banda a aproximadamente 1650 cm^{-1} lo que nos demuestra que la reacción de entrecruzamiento entre el quitosano y el agente entrecruzante ocurrió de forma satisfactoria. La caracterización por medio de DSC permitió identificar el comportamiento amorfo característico de los hidrogeles de quitosano, más no permitió la identificación de la Tg de los materiales debido a la rigidez de las cadenas del material sintetizado, esto nos muestra que la inclusión de los larvicidas en los materiales no influye en comportamiento térmico de los hidrogeles.

Los estudios de hinchamiento demostraron la disminución en la capacidad de absorber agua de los hidrogeles a medida que aumenta el porcentaje de entrecruzamiento en el material, debido a la disminución en la movilidad de las cadenas del quitosano y a la disminución del tamaño del poro a causa del entrecruzamiento. Por otro lado, se logró evidenciar que la presencia de los larvicidas si influyo en el hinchamiento del material, siendo los hidrogeles cargados con Novaluron los que mostraron menor hinchamiento debido a la posible interferencia de los larvicidas en el momento de realizar el entrecruzamiento.

Es importante mencionar que

RECOMENDACIONES

Se recomienda una análisis de la polidispersidad del quitosano ya que se observó diferencias de viscosidad de un lote a otro, lo que implica modificaciones en el método de síntesis cada vez que se cambia de lote.

También es importante que se realice la síntesis de los materiales empleando larvicidas puros y no en suspensión, ya que estos presentan muchos compuestos que no son declarados por el fabricante, por lo que pueden interferir en la caracterización del material.

Por otro lado, se recomienda realizar análisis más exhaustivos para la caracterización térmica, ya que por el método empleado no se pudo detectar las transiciones térmicas del material. Técnicas como DSC modulado o TGA, podrían darnos este tipo de información. A su vez, realizar análisis mecánicos de estos materiales por medio de pruebas reológicas para determinar la influencia de los larvicidas sobre las propiedades de los hidrogeles

Y por lo último, realizar análisis de liberación de los larvicidas para así determinar si el hinchamiento de los materiales está relacionado con la liberación del compuesto.

REFERENCIAS

- Pineda G, P., Prieto C, N., Gómez H, M., Rosales R, A., & Quintero C, D. (2006). ESTUDIO DE LA TRANSICIÓN VÍTREA EN EL POLIESTIRENO POR DSC Y MDSC. *Revista Colombiana de Física*, 1142-1145.
- Bocourt Povea, M., Cruz Rignack, J., Bada Rivero, N., & Peniche Covas, C. (2008). Síntesis y caracterización de hidrogeles biocompatibles interpenetrados de quitosana y poliacrilamida. *CENIC, ciencias químicas*, 70-74.
- Rohindra, D., Nand, A., & Khurma, J. (s.f.). *Swelling properties of chitosan hydrogels*. Suva, Fiji: The University of the South Pacific.
- (WHO), W. H. (2006). *WHO SPECIFICATIONS AND EVALUATIONS FOR PUBLIC HEALTH PESTICIDES. PYRIPROXYFEN*. World Health Organization .
- OMS. (Octubre de 2014). Recuperado el 20 de Octubre de 2014, de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/es/>
- Arredondo, A., & Londoño Lopez, M. E. (2009). Hidrogeles. Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos. *Revista Ingeniería Biomédica*, 83-94.
- Arrendo Jimenez, J., & Valdez Delgado, M. (2006). Effect of Novaluron (Rimon ® 10 EC) on the mosquitoes *Anopheles albimanus*, *Anopheles pseudopunctipennis*, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* from Chiapas, Mexico. *Medical and Veterinary Entomology*, 377–387.
- Beckage, N. E. (2000). Insect Growth Regulators. En J. Rechcigl, & N. Rechcigl, *Biological and biotechnological control of insect pests* (págs. 123-132). United state of America: CRC press LLC.
- Belinato, T. A., Martins, A. J., Pereira Lima, J. B., & Valle, D. (2013). Effect of triflumuron, a chitin synthesis inhibitor, on *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* under laboratory conditions. *Parasites & Vectors*, 1-7.
- Beltran Patiño, J. (2010). *Extracción y caracterización de quitosano del camarón titi y su aplicación en la liberación controlada de un fármaco*. Cali, Colombia: Universidad del valle.

- Btharrai, N., Gunn, J., & Zhang, M. (2009). Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. *ELSERVIER*, 83-99.
- Chapman, R. F. (1998). *The insects. Structure and function*. USA: Cambridge university.
- Copping, L., & Hewitt, G. (1998). *Chemistry and Mode of Action of Crop Protection Agents*. Reino Unido: Royal Society of Chemistry.
- Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca - Dirección Técnica Ambiental. (2010). *Amphibian Survival Alliance*. Recuperado el 23 de 11 de 2013, de Plan de acción para la conservación de los anfibios del departamento del Valle del Cauca: <http://www.amphibians.org/wp-content/uploads/2013/07/Plan-de-acci%C3%B3n-para-la-conservaci%C3%B3n-de-anfibios.pdf>
- Cowie, J., & Arrighi, V. (2008). *POLYMERS: CHEMISTRY AND PHYSICS OF MODERN MATERIALS*. Taylor & Francis Group.
- Devine, G. J., Eza, D., Ogusuku, E., & Furlong, M. J. (2007). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Springer Science and Business Media*, 74-100.
- Elman, M., Introini, M. V., & Ripoll, C. (s.f.). *Directrices para la prevención y control de Aedes aegypti*. Argentina: Ministerio de Salud de la Nación.
- EPA. Environmental Protection Agency . (2001). *Pesticide Fact Sheet. Novaluron*. United State: Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances.
- Escobar, J., Zaldivar, D., Aguero, L., Fernández, S., & Katime, I. (2000). LIBERACION DE CEFAZOLINA SODICA A PARTIR DE HIDROGELES DE COPOLÍMEROS DE POLI(ACRILAMIDA-co-ACIDO METACRILICO). *Revista iberoamericana de polímeros*, 2-10.
- FAO. (s.f.). *FAO SPECIFICATIONS AND EVALUATIONS FOR PLANT PROTECTION PRODUCTS*. United State: Food and Agriculture Organization of The United State.
- Farnasi, L. C., Brito, J. M., Linss, J. G., Pelajo-Machado, M., Valle, D., & Rezende, G. L. (2012). Physiological and Morphological Aspects of Aedes aegypti Developing Larvae: Effects of the Chitin Synthesis Inhibitor Novaluron. *PLOS ONE*, 1-9.
- Gabbott, P. (2008). *Principles and Applications of Thermal Analysis*. Oxford: Backwell publishing.

- Ganji, F., Vasheghani-Farahani, E., & Vasheghani-Farahani, S. (2010). Theoretical Description of Hydrogel Swelling: A review. *Iranian Polymer Journal*, 375-398.
- García Zapata, J. (2013). *Síntesis y caracterización de una red polimérica interpenetrada de poli(metacrilato de 2 hidroxietilo) y quitosano como posible matriz de liberación controlada de fármacos*. Santiago de Cali, Colombia.
- González V, G. (2006). Dengue y dengue hemorrágico. En J. A. Correa V, J. F. Gomez R, & R. Posada S, *Fundamentos de pediatría. Infectología y neumología* (págs. 83-84). Medellín, Colombia: Corporación para investigaciones Biológicas.
- INS. (2015). *Boletín Epidemiológico Semanal.(BES) No 45*. Bogotá- Colombia: Instituto Nacional de Salud.
- Instituto Nacional de Salud, Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública. (2014). *BES Boletín Epidemiológico semana*. Colombia.
- Ishaaya, I., Nauen, R., & Horowitz, A. (2007). *Insecticides Design Using Advanced Technologies*. New York: Springer.
- Katime, I., Katime, O., & Katime, D. (2005). Material Inteligentes. Hidrogeles Macromoleculares. Algunas aplicaciones Biomédicas. *Anales de la Real Sociedad Española de Química*, 35-50.
- Katime, I., Katime, O., & Katime, D. (2005). Materiales inteligentes: Hidrogeles Macromoleculares. Algunas aplicaciones biomedicas. *Anales de Real Sociedad Española de Química*, 35-50.
- Lopez Montenegro, L. E. (2012). *Modelos y Control Óptimo Poblacional del Aedes aegypti con Retardos de tiempo*. Manizales, Colombia: Universidad Nacional De Colombia.
- Martinez vasquez, N., Antonio cruz, R., Álvarez castillo, A., Mendoza Martinez, A., & Morales cepeda, A. (2007). SWELLING KINETIC OF HYDROGELS FROM METHYL CELLULOSE AND POLY(ACRYLAMIDE). *REVISTA MEXICANA DE INGENIERÍA QUÍMICA Vol. 6, No. 3*, 337-345.
- Menard, K. P. (2008). *Dynamic Mechanical Analysis: A Practical Introduction, Second Edition*. Boca ratón: Taylor & Francis Group.
- Merzendorfer, H. (2013). Chitin Synthesis inhibitors: old molecules and new developments. *Insect science*, 121-138.

- Ministerio De la Protección Social. (s.f.). *Gestión para la Vigilancia Entomológica y control de la transmisión del dengue*. Colombia.
- Montero, G. (2009). *Producción animal*. Recuperado el 02 de nov de 2015, de Biología de aedes aegypti: http://www.produccion-animal.com.ar/fauna/Fauna_insectos/79-Aedes_aegypti.pdf
- Muñoz Pinto, F. (2015). *PROCESAMIENTO Y PROPIEDADES DE ALGUNAS POLIOLEFINAS*. Merida, Venezuela: Departamento de química, Universidad de los Andes.
- Neto, C., Giacometti, J., Job, A., Ferreira, F., Fonseca, J., & Pereira, M. (2005). Thermal Analysis of Chitosan Based Networks. *ELSERVIER*, 97-103.
- Ocampo, C. B., Mina, N. J., Carabalí, M., Alexander, N., & Osorio, L. (2013). Reduction in dengue cases observed during mass control of Aedes (Stegomyia) in street catch basins in an endemic urban area in Colombia. *ACTA TROPICA*, 15-22.
- Ocampo, C. B., Salazar Terreros, M. J., Mina, N. J., McAllister, J., & Brogdon, W. (2011). Insecticide resistance status of Aedes aegypti in 10 localities in Colombia. *Acta Tropica*, 37-44.
- Ofokansi, K., Kenechukwu, F., Isah, A., & Okigbo, E. (2013). Formulation and Evaluation of Glutaraldehyde-Crosslinked Formulation and Evaluation of Glutaraldehyde-Crosslinked. *Tropical Journal of Pharmaceutical*, 19-25.
- Rani, M., Agarwal, A., & Singh Negi, Y. (2010). Characterization and Biodegradation Studies for Interpenetrating Polymeric Network (IPN) of Chitosan-Amino Acid Beads. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 71-84.
- Ratto, J., Hatakeyama, T., & Blumstein, R. (2000). Differential scanning calorimetry investigation of phase transition in water/chitosan systems. *elservier*, 2915-2919.
- Rojas, O., Moya, M., Sibaja, M., Ruedert, C., & Vega-Baurdrit, J. (2004). Estudios de liberación controlada de plaguicidas incorporados en hidrogeles de ácido itacónico. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 133-143.
- Romero, E. L. (2011). *OBTENCIÓN DE HIDROGELES DE QUITOSANO A PARTIR DEL MICELIO DE Aspergillus niger Y SU ESTUDIO EN LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE CEFALEXINA*. Santiago de Cali, Colombia: Universidad del Valle, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas.

- Salán Ballesteros, M. N. (2005). *Tecnología de procesos y transformación de materiales*. Catalunya, Barcelona: Universidad politecnica de catalunya.
- Sánchez , A., Sibaja, M., Vega-Baudrit, J., & Madrigal, S. (2007). SINTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE HIDROGELES DE QUITOSANO OBTENIDO A PARTIR DEL CAMARÓN LANGOSTINO (Pleuroncodes planipes) CON POTENCIALES APLICACIONES BIOMEDICAS. *Revista iberoamericana de Polímeros*, 241-267.
- SIGMA-ALDRICH. (2012). *SIGMA-ALDRICH*. Recuperado el 02 de 12 de 2015, de PYRIPROXYFEN:
<https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=CO&language=en&productNumber=34174&brand=FLUKA&PageToGoToURL=https%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fsearch%3Fterm%3DPYRIPROXYFEN%26interface%3DAI%26N%3D0%26mode%3Dmatch%2520partial>
- SIGMA-ALDRICH. (2013). *SIGMA-ALDRICH*. Recuperado el 02 de 12 de 2015, de NOVALURON:
<http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=CO&language=en&productNumber=32419&brand=FLUKA&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2FFLUKA%2F32419%3Flang%3Den>
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2008). *Principios de Análisis Instrumental. sexta edición*. Mexico, D.F: Cengage Learning.
- Universidad Carlos III de Madrid. (2015). *open course ware*. Recuperado el 03 de 12 de 2015, de Prácticas: Análisis Térmico por DSC:
http://ocw.uc3m.es/ciencia-e-oin/caracterizacion-de-materiales/practicas-2/Practicas_de_DSC.pdf
- Valderruten, N., Valverde, J., Zuluaga, F., & Ruiz Duránte, E. (2014). Synthesis and characterization of chitosan hydrogels cross-linked with dicarboxylic acids. *ELSEVIER*, 21-28.
- Vargas Vargas, M. (1998). *El mosquito: un enemigo peligroso*. San José, Costa Rica: Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Villada Morales, J. D. (2015). *Obtención y caracterización estructural por FT-IR de los materiales ionoméricos clorhidrato, acetato y formiato de eudragit E-100 con diferentes grados de ionización*. Cali, Colombia: Universidad Icesi.
- Virrareal Salazar, L. I. (2012). *Determinación de las concentraciones diagnósticas de los reguladores de crecimiento de insectos piriproxifen y diflubenzurón para Aedes aegypti (Diptera:Culicidae) cepa Rockefeller y el estado de la*

resistencia de seis poblaciones de campo en Colombia. Bogotá D.C - Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina.

WHO. (2004). *Pyriproxyfen in Drinking-water.*

WHO. (2008). *Novaluron in Drinking-water: Use for Vector Control in Drinking-water Sources and Containers.* Geneva, Switzerland: World Health Organization .

WHO. (2009). *Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and Control.*

Yuferá, E. P. (2007). *Química orgánica básica y aplicada. De la molécula a la industria. tomo II.* Barcelona, España: Editorial Reverte.