

**ESTUDIO DEL MODELO CINÉTICO DE LIBERACIÓN DE PIRIPROXIFEN A
PARTIR DE HIDROGELES DE QUITOSANO Y LAS PROPIEDADES
MECÁNICAS DE LA MATRIZ**

BRAYAM STEVEN CERTUCHE BELTRÁN

**UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA
SANTIAGO DE CALI
2017**

**ESTUDIO DEL MODELO CINÉTICO DE LIBERACIÓN DE PIRIPROXIFEN A
PARTIR DE HIDROGELES DE QUITOSANO Y LAS PROPIEDADES
MECÁNICAS DE LA MATRIZ**

BRAYAM STEVEN CERTUCHE BELTRÁN

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE PREGRADO EN
QUÍMICA FARMACÉUTICA**

TUTORAS:

NORA ELENA VALDERRUTEN, Ph.D

CLARA BEATRIZ OCAMPO, Ph.D

**SANTIAGO DE CALI
2017**

APROBADO POR:

Constain Salamanca Hugo, Ph.D

Evaluador

Nora Elena Valderruten, Ph.D

Director del proyecto

Clara Beatriz Ocampo, Ph.D

Director del proyecto

Santiago de Cali
Viernes 28 de Julio del 2017

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Jehova por la vida y por lo que he logrado, por darme discernimiento y sagacidad para afrontar las diferentes circunstancias por las que he pasado, siendo la mayoría muy buenas. Por permitirme conocerle cada día más y ser quien soy. A mi hermosa familia por su ejemplo de amor y lucha, por brindarme todo en su alcance y enseñarme a valorar las cosas; por su compañía y preocupación por mi bienestar. A mi madre y mi mamita por su incondicional apoyo y soñar juntos, ayudándome a lograr mis metas.

A mis queridas tutoras, Nora Elena Valderruten y Clara Beatriz Ocampo, inmensurablemente gracias por su aceptación y compromiso, ayudándome en todo lo que he requerido, por su amabilidad y exigencia.

Agradezco a los jóvenes Juan David, Anderson Luna y Cristian Yarce por ser pilares importantes en el correcto desarrollo de la investigación. Extiéndase mi gratitud al personal del almacén de la Universidad Icesi y finalmente, agradezco a todos mis profesores que fueron los bloques para una base fuerte y a la vez una escalera para llegar hasta esta instancia de mi vida académica. Y a todas aquellas personas conocidas y compañeros que me apoyaron, con los cuales pase momentos duros y muy alegres durante mi pregrado.

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	7
LISTA DE GRÁFICAS	8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE ANEXOS	10
RESUMEN DEL PROYECTO	11
ABSTRACT.....	12
1. INTRODUCCIÓN	13
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	14
2.1 Planteamiento del problema de investigación y su justificación.....	14
2.2 MARCO TEÓRICO	16
2.2.1 ENFERMEDADES TROPICALES	16
2.2.1.1 Transmisión de la enfermedad.....	16
2.2.2 ESTRATEGIAS PARA COMBATIR EL VECTOR	16
2.2.2.1 Matrices poliméricas para liberación controlada de sustancias bioactivas.....	17
2.2.2.1.1. Cinética de liberación de las matrices poliméricas.	18
2.2.3 PIRIPROXIFEN	20
2.2.4. PROPIEDADES MECÁNICAS EVALUADAS MEDIANTE LA PRUEBA CREEP-RECOVERY.....	21
2.3 OBJETIVOS.....	23
2.3.1 Objetivo general	23
2.3.2 Objetivos específicos	23
2.4 METODOLOGÍA PROPUESTA	24
2.4.1 Materiales	24
2.4.2 Equipos.....	24
2.4.3 Reactivos.....	24
2.4.4 Síntesis de los hidrogeles	24
2.4.4.1 Síntesis de los hidrogeles para cinética de liberación del insecticida.	24
2.4.4.2 Síntesis de los hidrogeles para evaluación de propiedades mecánicas.....	26
2.4.5 Preparación de muestras para lectura en cromatógrafo de gases.	26
2.4.5.1 Montaje para liberación del larvicida	26

2.4.5.2 Determinación de la concentración del larvicida.....	28
2.4.6 Determinación de las propiedades mecánicas, estudio creep-recovery. .	28
2.5 MATRIZ DE MARCO LÓGICO	29
2.6 DISCUSIÓN Y RESULTADOS	32
2.6.1 Hidrogeles de quitosano sintetizados.....	32
2.6.2 Estudio de la cinética de liberación del Piriproxifen en la matriz de quitosano.	35
2.6.2.1 Búsqueda de alternativas y nuevos métodos para lectura en el cromatógrafo de gases.....	42
2.6.3. Ajuste a los modelos matemáticos de <i>Higuchi</i> y <i>Korsmeyer</i> y <i>Peppas</i> ...	47
2.6.4 Estudio de las propiedades mecánicas del hidrogel de quitosano (creep- recovery).	49
2.7 CONCLUSIONES	53
2.8 RECOMENDACIONES	54
3 REFERENCIAS.....	55
ANEXOS.....	59

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Diseño experimental del montaje de muestras.....	27
Tabla 2. Matriz de marco lógico.....	29
Tabla 3. Ajuste de los perfiles de liberación del hidrogel 10X-25% y 10X-75% a los modelos matemáticos de Higuchi y Korsmeyer y Peppas.	47
Tabla 4. Valores de deformación y recuperación en porcentajes para cada uno de los hidrogeles de quitosano sintetizados.....	50
Tabla 5. Volúmenes de emulsión de piriproxifen para cargar los hidrogeles según concentración 1X, 5X y 10X.....	59
Tabla 6. Resumen de los volúmenes de quitosano, glutaraldehído y piriproxifen que tiene cada hidrogel (según entrecruzamiento y concentración).	60
Tabla 7. Etiqueta con la que se marcaron los viales de cromatografía de las muestras de 10X (25%-75% entrecruzamiento) y 5X (25%-75% entrecruzamiento).....	63
Tabla 8. Variables para ajuste a los diferente modelos matemáticos para el hidrogel 10X-25%.....	69
Tabla 9. Variables para ajuste a los diferente modelos matemáticos para el hidrogel 10X-75%.....	70

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Piriproxifen liberado al medio circundante a través del tiempo a partir del hidrogel con 10X y 25% de entrecruzamiento, replica 1.	36
Gráfica 2. Piriproxifen liberado al medio circundante a través del tiempo a partir del hidrogel con 10X y 75% de entrecruzamiento, replica 1.	37
Gráfica 3. Piriproxifen liberado al medio circundante a través del tiempo a partir del hidrogel con 5X y 75% de entrecruzamiento, replica 1.	38
Gráfica 4. Piriproxifen liberado al medio circundante a través del tiempo a partir del hidrogel con 5X y 25% de entrecruzamiento.....	39
Gráfica 5. Piriproxifen liberado al medio circundante a través del tiempo a partir del hidrogel con 5X y 75% de entrecruzamiento, replica 2.	40
Gráfica 6. Piriproxifen liberado al medio circundante a través del tiempo a partir del hidrogel con 10X y 25% de entrecruzamiento, replica 2.	40
Gráfica 7. Piriproxifen liberado al medio circundante a través del tiempo a partir del hidrogel con 10X y 75% de entrecruzamiento, replica 2.	41
Gráfica 8. Experimento de creep-recovery de los diferentes hidrogeles de quitosano sintetizados.	49
Grafica 9. Ajuste de la liberación del piriproxifen en el hidrogel de 10X-25% al modelo de HIGUCHI.....	69
Grafica 10. Ajuste de la liberación del piriproxifen en el hidrogel de 10X-25% al modelo de korsmeyer y Peppas.	70
Grafica 11. Ajuste de la liberación del piriproxifen en el hidrogel de 10X-75% al modelo de HIGUCHI.....	71
Grafica 12. Ajuste de la liberación del piriproxifen en el hidrogel de 10X-75% al modelo de korsmeyer y Peppas.	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Molde de acrílico utilizado para la fabricación de los hidrogeles cuadrados para estudio de cinética de liberación.	25
Figura 2. Hidrogeles sintetizados en superficie de teflón para secado final a temperatura ambiente.	25
Figura 3. Molde utilizado para la fabricación de los hidrogeles circulares para estudio creep-recovery.	26
Figura 4. Montajes de muestras en baño maría (24 muestras con control y 18 muestras de recambio)	27
Figura 5. Curva de calibración en diclorometano por Cromatografía de gases (CG).	35
Figura 7. Cromatograma de 0,05ppm de Piriproxifen en Agua destilada con NPD.	43
Figura 8. Cromatograma de 0,3ppm de Piriproxifen en Agua destilada con NPD.	43
Figura 9. Cromatograma de 1 ppm de Piriproxifen en Agua destilada con NPD.	44
Figura 10. Curva de calibración de piriproxifen en agua destilada (10 concentraciones desde 0,005ppm hasta 4ppm).	45
Figura 11. Curva de calibración de piriproxifen en agua destilada (7 concentraciones desde 0,005ppm hasta 1ppm).	46
Figura 12. Curva de calibración de piriproxifen en agua destilada (7 concentraciones desde 0,005ppm hasta 1ppm; mismo método que la realizada en la figura 12).	46
Figura 6. Datos de la curva de calibración por duplicado en el cromatógrafo de gases.	62

LISTA DE IMÁGENES

Imagen 1. Estructura química del Piriproxifen.	21
Imagen 2. Hidrogeles de quitosano sintetizados y cargados con piriproxifen a diferentes porcentajes de entrecruzamiento.	32
Imagen 3. Mecanismo de entrecruzamiento entre quitosano y glutaraldehído (Díaz, 2013) (Sánchez, Sibaja, Vega Baudrit, & Madrigal, 2017) (Bruce, 2007).	34

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Cálculos para la síntesis de hidrogeles (Silva Ruiz, 2016).	59
Anexo 2. Reporte de curva de calibración de piriproxifen en diclorometano por el cromatógrafo de gases con ECD.	61
Anexo 3. Formato de identificación para lectura en cromatógrafo de gases de cada una de las muestras.	63
Anexo 4. Reporte de datos de las muestras de 10X (25% - 75% de entrecruzamiento) y 5X (75% entrecruzamiento) por el CG-ECD. Replica 1 del montaje.	64
Anexo 5. Reporte de datos de las muestras de 10X (25% - 75% de entrecruzamiento) y 5X (25% - 75% entrecruzamiento) por el CG-ECD. Replica 2 del montaje.	67
Anexo 6. Variables trabajadas para el ajuste de los modelos matemáticos a la liberación del piriproxifen.	69

RESUMEN DEL PROYECTO

Con el fin de contribuir al desarrollo de sistemas de liberación controlada de insecticidas que permitan mantener la efectividad de estos en el tiempo y disminuyan el impacto ambiental por su uso indiscriminado, este proyecto busco estudiar un sistema de liberación controlada de larvicida a partir de hidrogeles de quitosano. Para ello se buscó determinar la cinética de liberación del producto piriproxifen a diferentes concentraciones y el tiempo requerido en alcanzar la dosis letal 99, además de evaluar sus propiedades mecánicas mediante la prueba de creep-recovery.

Se sintetizaron los hidrogeles de quitosano con dos grados de entrecruzamiento (25% y 75%) y cargados con 3 diferentes concentraciones de piriproxifen (1X, 5X, 10X, donde $X=DL99=0,05\text{ppm}$). En los hidrogeles con forma circular se realizó el estudio de creep-recovery que demostró un comportamiento viscoelástico indistinto de la concentración del larvicida o el porcentaje de entrecruzamiento.

Con hidrogeles de forma cubica se realizó un montaje a condiciones controladas (termostatzado a 25°C), en vasos con 100mL de agua destilada donde se depositaban los hidrogeles, de allí se obtuvieron muestras de la solución a periodos de tiempo determinados para la determinación de la concentración liberada por medio del cromatógrafo de gases. Se utilizaron dos tipos de detectores (ECD – NPD) y solventes apolares (diclorometano) y polares (agua), y no se pudo leer correctamente el larvicida, o la molécula pudo haberse degradado ya que en casi todas las muestras se obtuvieron concentraciones de 0 ppm, por lo que la cinética de liberación del insecticida no se pudo determinar.

Palabras clave: Liberación controlada, *Aedes aegypti*, Enfermedades tropicales, Hidrogeles de Quitosano, Piriproxifén, creep-recovery, viscoelasticidad.

ABSTRACT

In order to contribute to the development of controlled release systems for insecticides to maintain their effectiveness over time and reduce environmental impact due to their indiscriminate use, this project sought to study a controlled release system of larvicides from Chitosan. The aim of this study was to determine the release kinetics of the pyriproxyfen product at different concentrations and the time required to reach the lethal dose 99, in addition to evaluating its mechanical properties by means of the creep recovery test.

Chitosan hydrogels were synthesized with two degrees of crosslinking (25% and 75%) and loaded with 3 different concentrations of pyriproxyfen (1X, 5X, 10X, where X = DL99 = 0.05ppm). In the circular-shaped hydrogels, a creep-recovery study was performed, showing a visco-elastic behavior, regardless of the concentration of the larvicide or the percentage of cross-linking.

With hydrogels of cubic form, a set up under controlled conditions (thermostatted at 25 ° C) was carried out in vessels with 100mL of distilled water where the hydrogels were deposited, from which samples were obtained from the solution at determined time periods for determination of the concentration Released by means of the gas chromatograph. Two types of detectors (ECD - NPD) and apolar solvents (dichloromethane) and polar (water) were used, and the larvicide could not be read correctly, or the molecule could have been degraded since almost all samples obtained concentrations of 0 Ppm, whereby the release kinetics of the insecticide could not be determined.

Keywords: controlled release, *Aedes aegypti*, tropical diseases, chitosan hydrogels, pyriproxyfen, creep-recovery, viscoelasticity

1. INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de insecticidas selectivos que ayuden a reducir la contaminación ambiental para el control de vectores de enfermedades tropicales se ha visto la utilidad del Piriproxifen. Este larvicida cumple una función homóloga a la hormona juvenil de crecimiento de algunos mosquitos como el *Aedes aegypti*, alterando el correcto desarrollo de los insectos en sus estadios más tempranos (larva y pupa) y limitando la capacidad de reproducción de las hembras adultas (Berti, Manzo, Ramos, & Guerra, 2013).

La preocupación de salud pública por disminuir los altos índices de enfermedades tropicales como el dengue, el Zika y el chikungunya, que afectan en su mayoría a países subdesarrollados, ha llevado al desarrollo de estudios para la prevención de estas patologías, como el descubrimiento de vacunas o el uso de sustancias químicas para controlar al vector. Estas investigaciones (médicas) no son de interés para la industria farmacéutica puesto que se busca que sean económicas y de amplio uso, por lo que la aplicación de insecticidas ha sido el instrumento más utilizado para disminuir las poblaciones de vectores y de esta forma disminuir la transmisión; sin embargo, esto ha generado nuevos problemas.

En primer lugar los insectos han generado resistencia a casi todos los tipos de plaguicidas, haciendo la vida útil de estas sustancias muy cortas, con la limitante que el desarrollo de nuevos compuestos químicos es muy complejo y costoso. Y en segundo lugar, el uso indiscriminado de los insecticidas en muchos ámbitos como la agricultura, la ganadería, entre otros, ha ocasionado una acumulación de estas sustancias en los ecosistemas, afectando a otras especies (Bisset J. , 2002).

Unos de los principales vectores transmisores de enfermedades tropicales es el *Aedes aegypti*, un mosquito originario de África, que utiliza como criaderos las aguas estancadas. La infección se da por medio de la picadura de la hembra del mosquito, que estaba infectada con el virus de un paciente con dengue (Blasco, 2016).

Entre las estrategias estudiadas para solucionar esta problemática se han empleado matrices poliméricas como contenedores de sustancias con acción insecticida, que brindan una liberación controlada en las dosis efectivas sin el desperdicio de las mismas.

En este proyecto se trabajó con hidrogeles de quitosano entrecruzados con glutaraldehído como estrategia para controlar el vector encargado de la transmisión de estas enfermedades (*Aedes aegypti*). De esta manera se espera ayudar a disminuir la contaminación generada por los insecticidas por medio de una liberación controlada.

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

2.1 Planteamiento del problema de investigación y su justificación

¿Permiten los hidrogeles de quitosano evitar el desperdicio de larvicidas en el medio ambiente, manteniendo una liberación controlada con las concentraciones adecuadas en el tiempo, para el eficiente control del vector de enfermedades tropicales, *Aedes aegypti*?

Es evidente la necesidad del uso de plaguicidas para el cuidado y tratamiento de muchos sectores, principalmente la agricultura, la ganadería y enfermedades de importancia en salud pública. Dentro de los plaguicidas utilizados para el control de vectores de enfermedades tropicales están los insecticidas, que es una forma indirecta de disminuir los índices de enfermedades como el dengue, el chikunguya y la Zika, entre muchas otras que afectan a un alto número de personas en las poblaciones ubicadas en las zonas urbanas de las regiones tropicales y subtropicales del planeta. (Organización Mundial de la Salud, 2017), (Villarroel & Dennis Javier Segales Rojas, 2014).

Los insecticidas son un subgrupo de los plaguicidas, siendo aquellos compuestos químicos u organismos que matan a los insectos por acción química, física o biológica. Los insecticidas se pueden clasificar en tres clases: Venenos de ingestión, venenos de contacto y fumigantes (por vía respiratoria) (T.Stadler, 2017).

La industria ha desarrollado una gran variedad de productos que combaten estos insectos en sus diferentes estadios de vida, para ser aplicados en distintos entornos. Todos estos productos son sustancias tóxicas que afectan la fauna, la flora y a los seres humanos, esto ha causado una gran discusión a nivel mundial y molestia por parte de los ecologistas. Los insecticidas pueden generar desde alergias hasta intoxicaciones, el desarrollo de mutaciones y cáncer en el ser humano, así como la muerte de muchos animales acuáticos. Es por esto; que la investigación en los últimos años ha buscado el desarrollo y uso de sustancias menos dañinas, más selectivas y efectivas en menores concentraciones para el control de los vectores. Para evaluar los efectos de los biocidas sobre la salud del ser humano, se recomienda clasificar los plaguicidas por su dosis letal 50 (Organización Mundial de la Salud) y así considerar la aplicabilidad de la sustancia (Villarroel & Dennis Javier Segales Rojas, 2014). Dentro de las sustancias descubiertas y usadas hoy en día está el Piriproxifen, este larvicida afecta el correcto desarrollo de los insectos en su estadio de larva y pupa, y afecta la reproducción en los adultos alterando sus órganos genitales. (BAYER, 2017)

Un avance simultáneo en la forma de aplicar y liberar el insecticida es el complemento perfecto que ayudaría a garantizar un correcto uso de estos compuestos. Los hidrogeles de quitosano pueden ser un mecanismo de liberación controlada en la cual se incorpora el larvicida para mantener una concentración de liberación a través del tiempo que garantice el control de los vectores y, que a su vez, reduzca la contaminación debido a las cantidades que

se aplican en el medio ambiente. De esta manera, se evita la acumulación del insecticida en el medio ambiente, se disminuyen los riesgos para otras especies y por consiguiente, los daños para el ser humano. Por otro lado, su eficiencia en el control de los vectores es mayor, ya que aumenta el tiempo de acción del larvicida aún en criaderos con recambio de agua.

La investigación del comportamiento del hidrogel, permite tener una certeza del funcionamiento del mismo como un sistema de liberación controlada del larvicida y, ser usado para el desarrollo de productos que cuiden el medio ambiente y sean aplicables en los diferentes sectores donde se requieran.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 ENFERMEDADES TROPICALES

Las enfermedades tropicales son el conjunto de enfermedades endémicas de los países ubicados geográficamente en las zonas tropicales y subtropicales del planeta, y además, presentan ciertas características socioeconómicas similares. Debido a la migración humana entre los estos países por las facilidades de transporte, las enfermedades tropicales se han propagado a otras naciones donde nexistían. Otra condición que también ha favorecido la incidencia de estas patologías en otros lugares fuera del trópico, es el calentamiento global, donde el aumento de las temperaturas ayuda a que los insectos que transmiten las enfermedades tengan nuevas areas para vivir y propagarse.

Las enfermedades tropicales más comunes son el dengue, la malaria, la esquistosomiasis, el colera, la amebiasis y la filariosis. Pero cada vez se descubren nuevas infecciones que ponen en alerta a las autoridades sanitarias de muchos paises; como el Zika y el chikungunya que afectan al terriotrio colombiano.

2.2.1.1 Transmisión de la enfermedad

Los vectores principales de las enfermedades tropicales son los insectos, específicamente los mosquitos, que transmiten los parásitos, bacterias o virus por la picadura de un hombre infectado y posteriormente pican a una persona sana. Se dan en el trópico debido a que se presentan las condiciones más favorables para el desarrollo de estos insectos, (Torrades, 2001). El vector que más se ha estudiado y se busca controlar es el mosquito *Aedes aegypti*, que transmite las enfermedades del Zika, dengue, Fiebre amarilla y chikungunya. Según un reporte publicado por la Organización Mundial de la Salud y la Organización Panamericana de la Salud el país de Colombia presento 49.529 casos de dengue y un total de 955.422 casos a nivel mundial (OMS, 2017). El *Aedes aegypti* es el principal vector transmisor de dichas enfermedades virales, está altamente adaptado a vivir en zonas urbanas y se desarrolla cualquier recipiente con aguas estancadas y desagües cercanos a viviendas(OMS, 2017).

2.2.2 ESTRATEGIAS PARA COMBATIR EL VECTOR

La alternativa más usada para disminuir los índices de las enfermedades tropicales es el control y erradicación del vector. La OMS destaca tres formas para disminuir la transmisión vectorial que son: Gestión ambiental, Control biológico y Control químico, (OMS, 2017).

Gestión Ambiental: Consiste en modificar los recipientes y la infraestructura donde puedan surgir huevos, larvas o pupas, mediante la mejora de los abastecimientos y almacenamiento de aguas, protegiéndolos contra los mosquitos; la correcta gestión de residuos sólidos y los recipientes que los contienen; la limpieza de las calles y las casas y la utilización de ropa y repelentes contra los mosquitos, (OMS, 2017).

Control Biológico: Trata de incorporar organismos que depreden o parasiten los vectores. En el caso del *Aedes aegypti* se usan varias especies de peces larvívoros y copépodos depredadores que reducen los mosquitos en sus estadios inmaduros, se usan en lagos, tanques y en depósitos de aguas (OMS, 2017).

Control Químico: Se utilizan diferentes productos químicos que buscan combatir al mosquito mediante distintos métodos y mecanismos de acción como los larvicidas e imagocidas. (OMS, 2017)

La utilización de estas sustancias también ha presentado cierta oposición debido a la contaminación y peligrosidad que representa para otras especies animales y al mismo ser humano. Por otro lado, los vectores al igual que sucede con los patógenos y las vacunas, han desarrollado resistencia a una gran variedad de insecticidas haciendo menos eficaz el uso de estos productos y promoviendo estudios, para el descubrimiento de nuevas estrategias o sustancias que combatan al vector en específico (Bisset J. A., 2002).

2.2.2.1 Matrices poliméricas para liberación controlada de sustancias bioactivas.

Dentro de las estrategias que ayudan a la disminución de la contaminación y aumenta el efecto residual del larvicida están las matrices poliméricas, como por ejemplo los hidrogeles de quitosano. Los hidrogeles son redes tridimensionales de polímeros que absorben buenas cantidades de agua sin disolverse en ella. Según el proceso de síntesis pueden presentar ciertas características como: ser elásticos, blandos, tener buena capacidad de hinchamiento y presentar una gran resistencia mecánica. Su carácter hidrófilo se da por presencia de grupos funcionales como: OH, COOH, CONH, entre otros (Peñaranda Arredondo & Londoño López, 2009).

Los hidrogeles son sistemas de liberación controlada, esto quiere decir; que la sustancia bioactiva es incorporada en una estructura que principalmente es un polímero o combinación de varios; y la liberación de dicha sustancia desde el sistema al medio exterior se da a una velocidad, que es influenciada por las propiedades del propio polímero, factores ambientales, como el pH, la temperatura y en caso de organismos por los fluidos del mismo. Es por esto, que los sistemas de liberación controlada son aquellos capaces de “permitir la administración de sustancias bioactivas de una forma lenta y continua durante períodos dilatados de tiempo” (Sáez, Hernáez, & Sanz Angulo, 2002). Además,

en el caso de liberación de insecticidas la liberación controlada evita concentraciones elevadas y tóxicas para otras especies y amplía el tiempo de dosis efectiva para el control de los vectores.

Cada día se realizan cambios en los sistemas conocidos y se descubren nuevas sustancias o combinaciones de ellas, para mejorar las características físicas y químicas de los hidrogeles como: la biodegradabilidad, la cinética de liberación y la capacidad de hinchamiento y de esta forma lograr la mayor optimización de dichos materiales, que permitan la liberación del ingrediente activo a un tiempo, velocidad y en un lugar deseado (Peñaranda Arredondo & Londoño López, 2009).

Entre las propiedades más importantes esta la capacidad de absorción de agua, que se debe al equilibrio entre la contrafuerza que ejercen las cadenas poliméricas en oposición a la expansión por el ingreso del agua en la red. Es por esto que la flexibilidad de la red polimérica y los espacios que se formen entre está determina la cantidad de agua que pueda albergar el hidrogel. Entre las propiedades que pueden resaltar la flexibilidad están: peso molecular, la concentración en solución acuosa y la pureza del polímero (Peñaranda Arredondo & Londoño López, 2009).

2.2.2.1.1. Cinética de liberación de las matrices poliméricas.

La cinética de liberación del larvicida puede estar influenciada por: factores ambientales; características del hidrogel como la densidad de la membrana y el grado de entrecruzamiento; la solubilidad y el área superficial; además de las propiedades físicas del insecticida como su peso molecular, solubilidad en agua e interacción con el hidrogel. (Peñaranda Arredondo & Londoño López, 2009).

Para evaluar el mecanismo mediante el cual se lleva a cabo la liberación es necesario ajustar los perfiles de liberación a un modelo matemático; para ello es importante evaluar varios modelos matemáticos que demuestran diferentes procesos de liberación.

El proceso de liberación del ingrediente activo puede llevarse a cabo mediante varios mecanismos como: difusión y relajación o hinchamiento. La difusión se da por el diferencial de gradiente entre la concentración que existe en el hidrogel y la del medio circundante. El hinchamiento está relacionado con la difusión de la sustancia activa desde y a través de la membrana del polímero, bajo difusión a contracorriente de agua hacia el interior del polímero (Aragon Fernández, Gonzáles Santos, & Fuentes Estévez, 2009),

Generalmente en el proceso de hinchamiento se cumple la ley de *Fick*, que es cuantitativa y describe varios casos de difusión de materia o energía, en un medio donde no hay equilibrio químico o térmico; además, implica que la densidad de flujo de partículas es proporcional al gradiente de concentración (Aragon Fernández, Gonzáles Santos, & Fuentes Estévez, 2009).

También los perfiles se pueden ajustar por la ecuación de *Higuchi* donde se da el proceso de liberación a partir de una de las caras de la matriz, en esta ecuación se demuestra que la fracción de ingrediente activo liberado es función de la raíz cuadrada del tiempo (Aragon Fernández, Gonzáles Santos, & Fuentes Estévez, 2009).

$$\frac{Mt}{M^\infty} = K \cdot t^{1/2} \quad (1)$$

Dónde: Mt/M^∞ es la fracción de soluto que se ha liberado a un tiempo t y K es la constante de velocidad de liberación.

Otro modelo puede ser el de *Korsmeyer y Peppas* donde explica mecanismos de liberación que presenta erosión o disolución de la matriz, siendo una forma generalizada de la ecuación de Higuchi.

$$\frac{Mt}{M^\infty} = K \cdot t^n \quad (2)$$

Dónde: K es una constante que representa características estructurales y geométricas del sistema de liberación y n es el exponente que indica el mecanismo de liberación del medicamento (Aragon Fernández, Gonzáles Santos, & Fuentes Estévez, 2009).

2.2.2.1.2 Quitosano como polímero para síntesis de hidrogeles.

El quitosano es un polisacárido catiónico lineal (Sánchez, Sibaja, Vega Baudrit, & Madrigal, 2017) que se obtiene por la hidrólisis del grupo aminoacetil de la quitina. Su estructura química está conformada por unidades de N-acetil-D-glucosamina y D-glucosamina distribuidas aleatoriamente. La quitina es el segundo biopolímero lineal más abundante de la naturaleza y hace parte del citoesqueleto de insectos, moluscos, artrópodos y algas. El quitosano de forma industrial es usado como bioadhesivo, bioestimulador de semillas, en limpieza de aguas como complejante de metales pesados, en biomedicina, entre muchos otros usos (Ladino Beltran, 2016), (Melaj & Daraio, 2011). El quitosano se ha visto como un buen candidato para la síntesis de hidrogeles gracias a su característica biodegradable, biocompatible (no genera respuesta del sistema inmune), procesamiento sencillo, no tóxico y abundancia (fácil de conseguir).

Los hidrogeles de quitosano están clasificados como iónicos y covalentes. Los covalentes se pueden subdividir en tres grupos: quitosano entrecruzado consigo mismo, redes poliméricas híbridas y redes de polímeros interpenetrados. El entrecruzamiento se da por dos unidades estructurales que pueden pertenecer o no a la misma cadena polimérica. De las interacciones que se presentan están las de enlaces covalentes; pero pueden presentar otras, como enlaces de hidrógeno e interacciones hidrófobas, que se forman entre unidades acetiladas del quitosano (Sánchez, Sibaja, Vega Baudrit, & Madrigal, 2017).

Para el entrecruzamiento se emplean los dialdehídos como el glioxal y glutaraldehído. La reacción se da entre el aldehído al formar un enlace imina

covalente con los grupos amino primarios del quitosano, “debido a la resonancia establecida con enlaces dobles adyacentes vía reacción de Schiff” (Sánchez, Sibaja, Vega Baudrit, & Madrigal, 2017).

Con el entrecruzamiento covalente se obtiene una red permanente que facilita la difusión de agua y mejora las propiedades mecánicas. Por lo que se usa en la liberación de drogas y como soporte para crecimiento de células (Sánchez, Sibaja, Vega Baudrit, & Madrigal, 2017).

2.2.3 PIRIPROXIFEN

En la búsqueda de insecticidas que generen el mínimo riesgo al entorno ambiental para las especies no objetivo y a la vez sea eficaz en el control del *Aedes aegypti*, los larvicidas han sido de gran interés, especialmente el Piriproxifen, que a concentraciones muy bajas matan al 99% de las larvas y pupas del mosquito.

El Piriproxifen (ver imagen 1) se encuentra en la categoría de reguladores del crecimiento de los insectos, cumple una función análoga a la hormona del crecimiento alterando la reproducción y embriogénesis de los mosquitos. El efecto morfogenético se expresa en la transición de larva a pupa, donde la muerte sucede en esta última fase y no llegan a adultos. En las hembras adultas se ha observado una capacidad limitada para reproducirse. (Salazar, 2012)

La OMS ha establecido unos límites de ingesta diarias aceptables para el ser humano de 100g/Kg por día para toda la vida (Truong & Greg Gonnerman, 2016).

Este larvicida tiene un bajo impacto ambiental, pero aun así, puede presentarse algún efecto en otros artrópodos o crustáceos. Por lo que debe evitar aplicarse en fuentes de aguas naturales.

Entre sus características fisicoquímicas encontramos un punto de fusión entre 45 y 47°C; una densidad relativa de 1,23 a 20°C y un peso molecular de 321.37. Es insoluble en agua según su estructura química que se puede observar en la imagen 1, pero soluble en compuestos orgánicos como metanol, hexano y diclorometano. Tiene una presión de vapor de 0,0003 a 20°C. Al calentarse se descompone en compuestos tóxicos como óxidos de nitrógeno y monóxido de carbono, presentando una vida media de 36 días en el suelo en condiciones aerobias (Salazar, 2012).

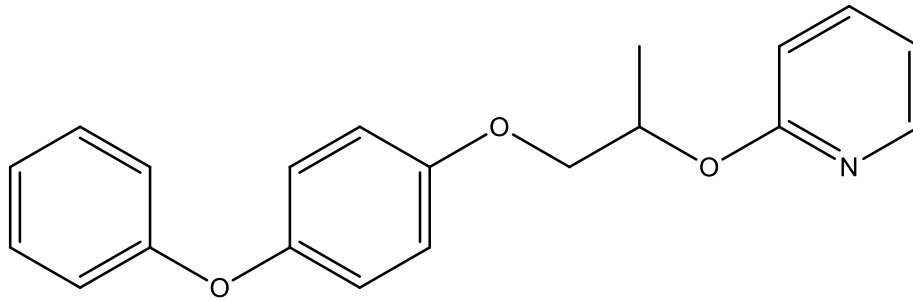


Imagen 1. Estructura química del Piroxicam.

2.2.4. PROPIEDADES MECÁNICAS EVALUADAS MEDIANTE LA PRUEBA CREEP-RECOVERY.

Otras propiedades importantes de analizar en los hidrogeles son las mecánicas, entre ellas está la capacidad de resistencia a la deformación y la recuperación elástica (capacidad de volver a su estado original antes de la deformación). Estos parámetros se estudian mediante la técnica de creep-recovery, que consiste en la aplicación de un esfuerzo (presión) constante donde se evalúa la deformación durante el tiempo de aplicación del esfuerzo y la recuperación en función del tiempo, una vez se ha eliminado dicho esfuerzo. Este estudio se realiza empleando un reómetro. (VISCOELASTICIDAD, 2017).

Los reómetros son instrumentos que permiten medir las propiedades reológicas o de fluidez de un líquido que no puede ser expresado en valores de viscosidad. Estos aparatos miden dentro de la zona de viscoelasticidad lineal que abarca a deformaciones casi infinitesimales, muy cercanas al equilibrio, por lo que un material bajo estos parámetros va a estar condicionado por su estructura molecular, lo cual confiere una buena herramienta de caracterización de materiales (VISCOELASTICIDAD, 2017).

Esta técnica permite caracterizar los materiales como viscosos, elásticos o viscoelásticos. Los materiales elásticos tienen la capacidad de deformarse y presentar una recuperación total, los viscosos o plásticos no se recuperan a su forma original, mientras que los viscoelásticos se recuperan parcialmente.

Los sólidos elásticos se consideran de acuerdo a la ley de Hooke, donde la deformación dada es proporcional al esfuerzo aplicado; mientras que los líquidos viscosos seguirían la ley de Newton, es decir, el esfuerzo aplicado es directamente proporcional a la velocidad de deformación, pero independiente de la deformación misma. Esta caracterización de los sólidos elásticos y los fluidos viscosos encaja dentro de un rango de linealidad (esfuerzo/deformación y esfuerzo/velocidad de deformación), ya que si se superan estos rangos cualquier material se rompe puesto que llega al punto de fractura (VISCOELASTICIDAD, 2017).

En relación a los denominados materiales viscoelásticos existe un comportamiento parecido, para deformaciones muy bajas, casi cercanas al equilibrio, existe una relación lineal entre esfuerzo y deformación, encontrándose en la zona denominada como de "viscoelasticidad lineal". Para deformaciones mayores, dicha relación deja de ser lineal y se llega a la zona de "viscoelasticidad no lineal" (VISCOELASTICIDAD, 2017).

Un parámetro que se usa para caracterizar las sustancias según su comportamiento elástico, viscoso y/o viscoelástico es el número de Deborah, introducido por el Dr. Reiner uno de los fundadores de la reología.

Se define así:

$$De = \frac{T}{t} \quad (3)$$

Donde t es un tiempo característico de la deformación que se somete una determinada sustancia y τ es un tiempo de relajación de dicha sustancia.

Según el valor De , se pueden clasificar:

$De < 1$ Viscoso

$De > 1$ elástico

$De \approx 1$ Comportamiento viscoelástico (VISCOELASTICIDAD, 2017).

Todas estas características mecánicas también se ven influenciadas como se había dicho anteriormente, por diferentes parámetros propios de los polímeros como: el peso molecular, el grado de desacetilación, el grado de entrecruzamiento, la pureza y la combinación de diferentes polímeros (copolímeros o mezclas).

2.3 OBJETIVOS

2.3.1 Objetivo general

Estudiar un sistema de liberación controlada del larvicida Piriproxifen a partir de un hidrogel de Quitosano.

2.3.2 Objetivos específicos

Sintetizar hidrogeles de Quitosano con dos grados de entrecruzamiento y cargados con diferentes concentraciones de piriproxifen.

Determinar la cinética de liberación del larvicida Piriproxifen a partir de hidrogeles de Quitosano sintetizados.

Determinar el tiempo que tarda cada hidrogel en alcanzar la dosis letal₉₉ y el periodo de tiempo durante el cual la mantiene.

Identificar el modelo cinético al que se ajusta la liberación del larvicida a partir de los hidrogeles de quitosano.

Determinar las propiedades mecánicas (creep-recovery) de los materiales sintetizados.

2.4 METODOLOGÍA PROPUESTA

2.4.1 Materiales

Vasos plásticos con tapa de capacidad de 100mL, balones aforados de 250mL y 100mL, moldes, vasos de precipitado y magneto, viales de cromatografía, tubos eppendorf, micropipetas, espátulas, puntas para micropipetas, cajas Petri.

2.4.2 Equipos

Plancha de agitación (Marca VWR; modelo VMS-C7 S1), horno de calentamiento (Marca Binder), balanza analítica, ultrasonido (Cole-Parmer 8892), baño María, cromatógrafo de gases (Agilent con columna HP-5), y reómetro Bohlin C-VOR de sistema abierto para evaluar las propiedades mecánicas mediante prueba de creep-recovery.

2.4.3 Reactivos

Quitosano de bajo peso molecular con un 75%-85% de desacetilación (50,000-190,000 Da) (Marca Sigma-Aldrich).

Ácido acético glacial grado HPLC (Marca Fisher scientific), glutaraldehído al 50% (Marca Protectol), diclorometano grado HPLC (Marca Honeywell – Burdick and Jackson).

Piriproxifen comercial en emulsión O/W, densidad 1.09g/ml a 20°C (Epling EW, formulado por: Sumitomo Chemical Co). Estándar de Piriproxifen (Pestanal, Sigma-Aldrich), con pureza del 99,3%.

Todos estos reactivos fueron usados directamente en cada uno de los procesos donde se requirieron.

2.4.4 Síntesis de los hidrogeles

2.4.4.1 Síntesis de los hidrogeles para cinética de liberación del insecticida.

Para el hidrogel control se preparó una solución de quitosano al 3% en ácido acético glacial al 2%, para ello 3 gramos de quitosano se adicionaron poco a poco a la solución del ácido con agitación magnética constante, empleando una plancha de calentamiento/agitación hasta observar completa homogenización. Posteriormente, la mezcla se introdujo en un equipo de ultrasonido por una hora para eliminar las burbujas.

Por otra parte, se preparó una solución de glutaraldehído al 0,4%, tomando 2mL de glutaraldehído al 50% y adicionándolo en un balón aforado de 250mL (aforando con agua destilada). Posteriormente, se tomaron las cantidades adecuadas de cada solución para los diferentes grados de entrecruzamiento (40mL de quitosano y 24,6mL de glutaraldehído para el 25%; 60mL de quitosano

y 49,2mL de glutaraldehido para el 75% de entrecruzamiento). Se adicionó la solución de glutaraldehido en la de quitosano en constante agitación e inmediatamente después se adicionó en el molde correspondiente. En la figura 1 se muestra el molde usado en la fabricación de los hidrogeles que se llevaron al montaje para el estudio de la cinética de liberación.

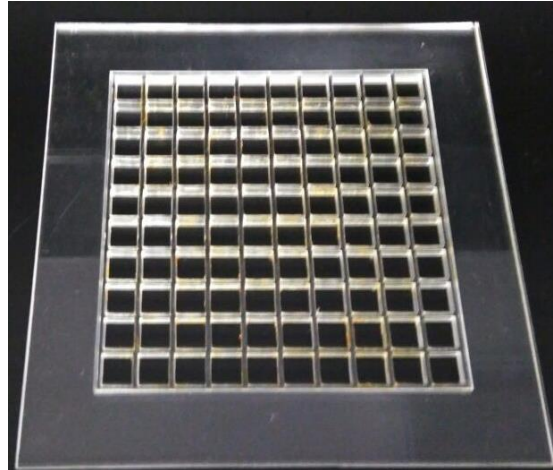


Figura 1. Molde de acrílico utilizado para la fabricación de los hidrogeles cuadrados para estudio de cinética de liberación.

Estas muestras tienen un 1cm^2 de área, se decidió hacer de esta forma los hidrogeles ya que se incrementa el área superficial y facilita la liberación del larvicida, además de ser más simple y eficiente la utilización del molde, debido a que se obtienen un gran número de hidrogeles (100 unidades).

El molde se introdujo en el horno a 28°C por 72 horas, posteriormente se retiraron los hidrogeles del molde y se pusieron en un recipiente de teflón a temperatura ambiente (ver figura 2) para terminar el secado, finalmente se almacenaron para su posterior uso.

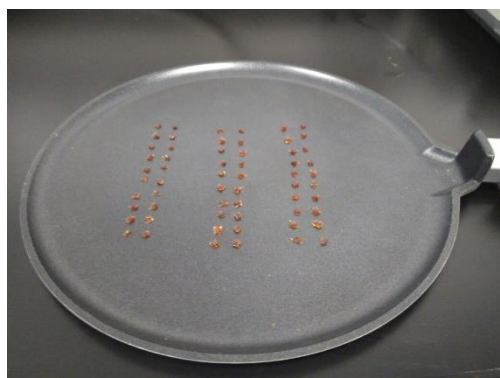


Figura 2. Hidrogeles sintetizados en superficie de teflón para secado final a temperatura ambiente.

Para los hidrogeles cargados con el larvicida se realizó el mismo procedimiento anterior, pero en la solución del ácido acético glacial se adicionaron las cantidades suficientes de Piriproxifen para las distintas concentraciones (1X, 5X, 10X), se esperó hasta una completa homogenización y después se adicionaron los 3 gramos de quitosano en agitación constante. Se continuó con los parámetros mencionados anteriormente para el hidrogel control (Silva Ruiz, 2016).

2.4.4.2 Síntesis de los hidrogeles para evaluación de propiedades mecánicas.

Los hidrogeles para el estudio de las propiedades mecánicas fueron preparados exactamente con las mismas soluciones que en la sección anterior (Síntesis de los hidrogeles para cinética de liberación del insecticida), a diferencia que se usaron moldes de forma circular, ya que esta es la geometría adecuada para realizar el estudio de creep-recovery. La muestra tenía un diámetro de 2,5cm al momento de ser cortada del molde, ya que con el secado se puede encoger un poco. En la figura de abajo (figura 3) se muestra el molde usado para los hidrogeles sintetizados que se llevaron al estudio de creep-recovery.

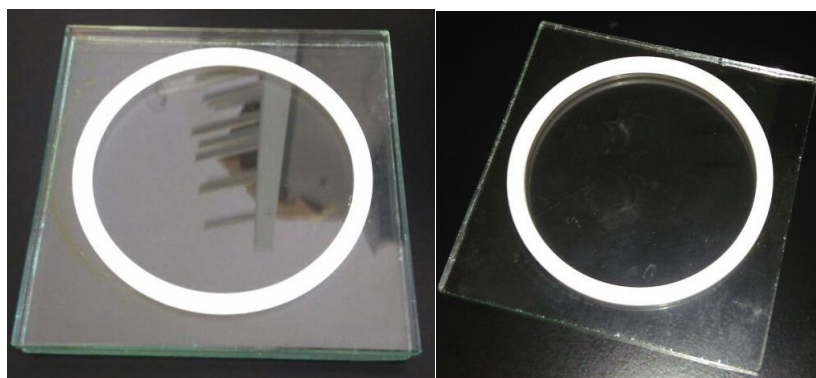


Figura 3. Molde utilizado para la fabricación de los hidrogeles circulares para estudio creep-recovery.

2.4.5 Preparación de muestras para lectura en cromatógrafo de gases.

2.4.5.1 Montaje para liberación del larvicida

Todos los experimentos fueron llevados a cabo a $25,0 \pm 0,1$ °C. La pastilla de hidrogel cargada con el larvicida se depositó en un recipiente plástico con 100 mL de agua destilada y desionizada, dentro de un baño termostatzado (ver figura 4). Para seguir la liberación de la droga se tomaron alícuotas de aproximadamente 250 μ l de la disolución donde se encuentra inmersa la pastilla a distintos tiempos y se determinó la concentración de las mismas. El volumen

total de disolución extraído no fue en ningún caso superior a 1,5 mL de forma que se consideró despreciable con respecto al volumen total (100 mL).

Se estableció un diseño experimental donde las diferentes composiciones se analizarían, teniendo en cuenta la concentración del larvicida (1X, 5X, 10X) y el grado de entrecruzamiento (25%, 75%), como se resume en la tabla 1.

Tabla 1. Diseño experimental del montaje de muestras

Concentración	Entrecruzamiento
1X	25% TRIPLICADO
1X	75% TRIPLICADO
5X	25 % TRIPLICADO
5X	75 % TRIPLICADO
10X	25 % TRIPLICADO
10X	75 % TRIPLICADO
CONTROL	25 % TRIPLICADO
CONTROL	75 % TRIPLICADO
TOTAL	24 Muestras

En tubos eppendorf se tomaron alícuotas de 250 μ L de cada uno de los vasos de las 24 muestras, dos días por semana (hasta mes y medio) y después se siguió tomando 1 vez por semana. Una vez tomadas las alícuotas se les adicionó diclorometano (250 μ L) y se extrajo la fase orgánica. Esto se realiza ya que el solvente al ser altamente volátil facilita la lectura de la muestra en el cromatógrafo de gases.

Se realizó otro montaje similar al anterior, pero sin los controles. A estos vasos se les realizaron recambios de agua cada 15 días y se tomaba la alícuota justamente antes del recambio. Este montaje se realizó con el fin de evaluar por cuánto tiempo podía mantener el hidrogel la dosis letal99 (0,05ppm) de piriproxifen. Se hizo el mismo proceso de extracción con diclorometano, como se explicó anteriormente, y se puso la fase orgánica en los viales de cromatografía para posteriormente llevarlos al cromatógrafo de gases.



Figura 4. Montajes de muestras en baño maría (24 muestras con control y 18 muestras de recambio)

2.4.5.2 Determinación de la concentración del larvicida

Para determinar la concentración de las muestras primero se realizó una curva de calibración del Piriproxifen, por medio de cromatografía de gases con detector de captura de electrones. Para ello se prepararon 6 disoluciones a concentraciones conocidas (3ppm, 1ppm, 0.5ppm, 0.3ppm, 0.1ppm, 0.05ppm) con el estándar de Piriproxifen. Se obtuvo el cromatograma correspondiente para cada concentración y la gráfica de la curva con dichos puntos. Estas soluciones se prepararon por duplicado y se escogió la curva que mejor correlación de linealidad presento (La segunda curva con un R^2 : 0.990432). A partir de esta curva se procedió a la identificación de las concentraciones de las muestras en las alícuotas de cada uno de los montajes, comenzando por el primer montaje de las 24 muestras y la primera replica de 10X y 5X.

Una vez obtenidos los datos de la liberación del larvicida se llevaría a cabo las gráficas de concentración vs tiempo; se realizaría un análisis de estas y se ajustarían a los modelos matemáticos propuestos, para así, determinar cuál concentración y grado de entrecruzamiento presentó condiciones ideales según el objetivo del proyecto relacionado con la cinética de liberación.

2.4.6 Determinación de las propiedades mecánicas, estudio creep-recovery.

Los hidrogeles sintetizados en forma circular se sometieron al estudio de creep-recovery en un reómetro Bohlin C-VOR de sistema abierto a 25°C, en el cual, se hizo el análisis de la recuperación de fluencia, por lo que se sometió a deformación al hidrogel aplicándose un esfuerzo de 30Pa durante 5 minutos, inmediatamente después se dejó de aplicar el esfuerzo y se observó la recuperación por otros 5 minutos.

2.5 MATRIZ DE MARCO LÓGICO

Tabla 2. Matriz de marco lógico.

OBJETIVO GENERAL			
Estudiar un sistema de liberación controlada del larvicida Piriproxifen a partir de un hidrogel de Quitosano.			
OBJETIVO ESPECÍFICO	ACTIVIDADES	SUPUESTOS	INDICADOR
Sintetizar hidrogeles de Quitosano con dos grados de entrecruzamiento cargados a diferentes concentraciones de Piriproxifen.	Entrenamiento en la síntesis de hidrogeles. Sintetizar los hidrogeles de quitosano a diferentes concentraciones del larvicida (5X, 10X) donde X es la concentración letal ₉₉ , con dos grados de entrecruzamiento (25% y 75%).	Moldes correctamente silanizados. Homogenización completa del larvicida en la solución. Gelificación de la solución final antes de adicionarse al molde.	Hidrogel deseado obtenido
Determinar la cinética de liberación del larvicida Piriproxifen a partir de los hidrogeles de Quitosano sintetizados.	Realización de dos tipos de montaje de muestras: 1. Muestras por triplicado, de los hidrogeles sintetizados con el larvicida (1X, 5X, 10X), con 2 grados de entrecruzamiento (25%, 75%); además de los controles. A 25°C 2. Montaje de muestras	Disponibilidad de quipos y materiales. Pérdida de hidrogel de recambio de agua. Sensibilidad del equipo a la molécula. Degradación del piriproxifen	Grafica de curva de calibración del Piriproxifen. Cromatogramas de cada una de las muestras analizadas. Grafica de concentración de insecticida liberada en el tiempo para cada uno de los hidrogeles sintetizados.

	<p>(triplicado) de los hidrogeles sintetizados cargados con el larvicida para recambio de agua cada quince días a 25°C.</p> <p>Realizar curva de calibración a concentraciones conocidas del larvicida en el cromatógrafo de gases.</p> <p>Toma de muestras de cada uno de los recipientes del baño maría dos veces por semana (durante mes y medio) y luego 1 vez por semana. (Muestras de no recambio de agua).</p> <p>Toma de muestras cada 15 días para las muestras de recambio.</p> <p>Adición de diclorometano a las muestras acuosas para separación del larvicida.</p> <p>Inyecciones y determinación de la concentración de Piriproxifen en la solución.</p>		
Identificar cuando se alcanza la dosis letal ₉₉ y por cuánto	Análisis y comparación detallado entre cada una de las gráficas de las muestras analizadas		El tiempo en que se demora cada uno de los hidrogeles en alcanzar la dosis

tiempo se mantiene a través del tiempo.	por cromatógrafo de gases tabulando el periodo en el cual se alcanza y se mantiene la dosis letal ₉₉ .		letal ₉₉ en la solución.
Identificar el modelo cinético al que se ajusta la liberación del larvicida a partir de los hidrogeles de quitosano.	Cálculos matemáticos, de regresión lineal y aplicación de ecuaciones de modelos matemáticos según resultados de los perfiles de liberación.	No representar ningún tipo de modelo matemático de liberación.	Modelo matemático asemejado
Determinar las propiedades mecánicas (creep-recovery) de los materiales sintetizados.	Enviar los hidrogeles a análisis de creep-recovery.	Perdida o daño de los hidrogeles.	Graficas de viscoelasticidad correspondientes a cada uno de los hidrogeles sintetizados.

2.6 DISCUSIÓN Y RESULTADOS

2.6.1 Hidrogeles de quitosano sintetizados

Se lograron sintetizar los hidrogeles de quitosano cargados a diferentes concentraciones del larvicida piriproxifen y con dos grados de entrecruzamiento (25% y 75%). Se usaron soluciones de quitosano al 3% en ácido acético glacial al 2%. En la imagen 2 se observa los hidrogeles sintetizados de 10X al 25% (fila superior) y 75% (fila inferior) de entrecruzamiento, no presentan mayor diferencial visual.

El insecticida comercial se adicionó a la solución ácida antes de mezclar el quitosano, ya que se facilitaba la homogenización en el medio (Silva Ruiz, 2016). El piriproxifen comercial viene preparado en una emulsión de aceite en agua (O/W) lo que facilita la partición homogénea en el medio acuoso.

Por otro lado, la solubilidad del quitosano está relacionada con el número de grupos amino protonados, cuanto más grupos tenga protonados mayor será su solubilidad; esto también depende directamente del grado de desacetilación del polímero (Sánchez, Sibaja, Vega Baudrit, & Madrigal, 2017).

El entrecruzante utilizado fue glutaraldehído al 0,4%. Se usó dicha concentración para impedir la gelificación rápida del quitosano, lo que impide llevarlos al molde y obtener las muestras deseadas. La disminución en la concentración del glutaraldehído incrementa el tiempo de la reacción de entrecruzamiento puesto que debe encontrarse y reaccionar con los grupos amino del quitosano (Silva Ruiz, 2016).



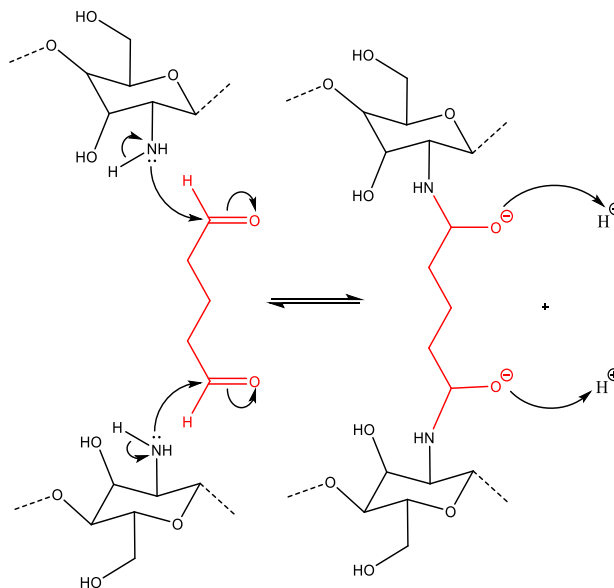
Imagen 2. Hidrogeles de quitosano sintetizados y cargados con piriproxifen a diferentes porcentajes de entrecruzamiento.

En cuanto al efecto del medio ácido con el piriproxifen, este no tendría consecuencia alguna. Este insecticida es una molécula formada por grupos éteres y una piridina. La hidrólisis de los éteres se produce en presencia de un catalizador ácido y a altas temperaturas, En la preparación de los hidrogeles se

usó una solución de ácido débil y no hubo calentamiento. Este análisis soportaría el supuesto de que no hubiese algún tipo de degradación de la molécula (Silva Ruiz, 2016).

La reacción que se lleva a cabo para el entrecruzamiento está catalogada como una reacción de Schiff, que sucede entre el grupo aldehído y los grupos amino del quitosano, formando un enlace imina covalente. Esto se da por el ataque nucleofílico de grupo amino del quitosano al carbono del carbonilo del aldehído. Los dialdehídos facilitan la reacción en un medio acuoso sin que haya presencia de reductores que disminuyan su biocompatibilidad (Sánchez, Sibaja, Vega Baudrit, & Madrigal, 2017).

En la imagen 3 se presenta el mecanismo por el cual se lleva a cabo la reacción de entrecruzamiento, donde R representa el resto de la cadena, en este caso en particular se refiere al anillo que forma parte del quitosano como se observa en la primera sección del mecanismo.



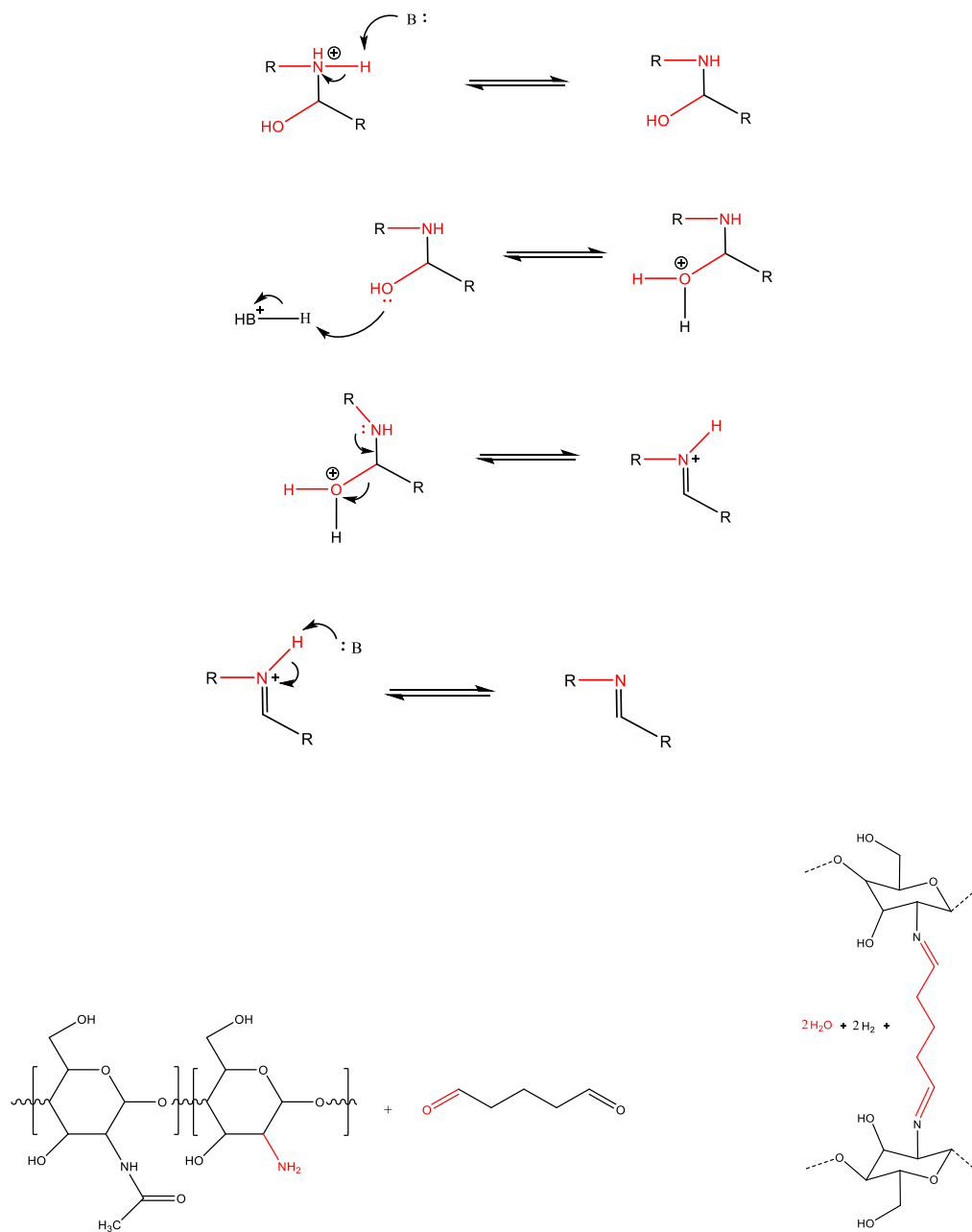


Imagen 3. Mecanismo de entrecruzamiento entre quitosano y glutaraldehído (Díaz, 2013) (Sánchez, Sibaja, Vega Baudrit, & Madrigal, 2017) (Bruice, 2007).

Se estudiaron sistemas con diferente porcentaje de entrecruzamiento (25% y 75%) para determinar cuál sería la matriz más efectiva en el tiempo, es decir, cuál de ellas mantendría en el medio la dosis letal 99 por un periodo más prolongado, evitando la acumulación de de la sustancia bioactiva en el medio. Se esperaría que la matriz con 75% de entrecruzamiento llegara al punto de equilibrio mucho después que la del 25%, y que en la muestras de recambio se observara una liberación del piriproxifen por un periodo más prolongado con 75% que con 25% de entrecruzamiento. La difusión de larvicida hacia el exterior debería ser menor cuando el grado de entrecruzamiento aumenta, porque el

proceso de hinchamiento va a ser más lento cuanto más entrecruzadas estén las cadenas debido a la resistencia que presentan las cadenas poliméricas entrecruzadas a la expansión por el ingreso del agua (Aragon Fernández, Gonzáles Santos, & Fuentes Estévez, 2009) (Peñaranda Arredondo & Londoño López, 2009).

2.6.2 Estudio de la cinética de liberación del Piriproxifen en la matriz de quitosano.

Se realizó una curva de calibración partiendo de una solución (1000ppm) del estándar de piriproxifen (99.3% de pureza) en metanol, para obtener 6 soluciones de concentraciones conocidas: 0,05ppm, 0,1ppm, 0,3ppm, 0,5ppm, 1ppm y 3ppm. Las disoluciones se aforaron con diclorometano, el solvente utilizado para las extraer las muestras del montaje de liberación y leerlas en el cromatógrafo de gases. Las disoluciones se prepararon dos veces y se trabajó con la que presento mejor R^2 (ver anexo 2).

Se obtuvo la curva mostrada en la figura 5 con un $R^2= 0.990432$. Los resultados de tiempo de retención, concentración y área arrojadas por el cromatógrafo de gases se pueden visualizar en el anexo 2-figura 6.

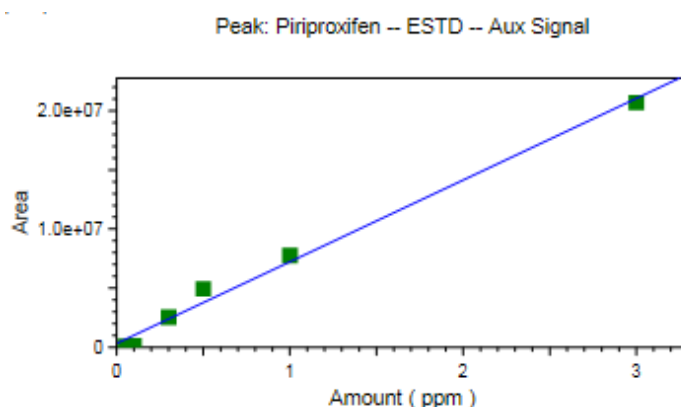
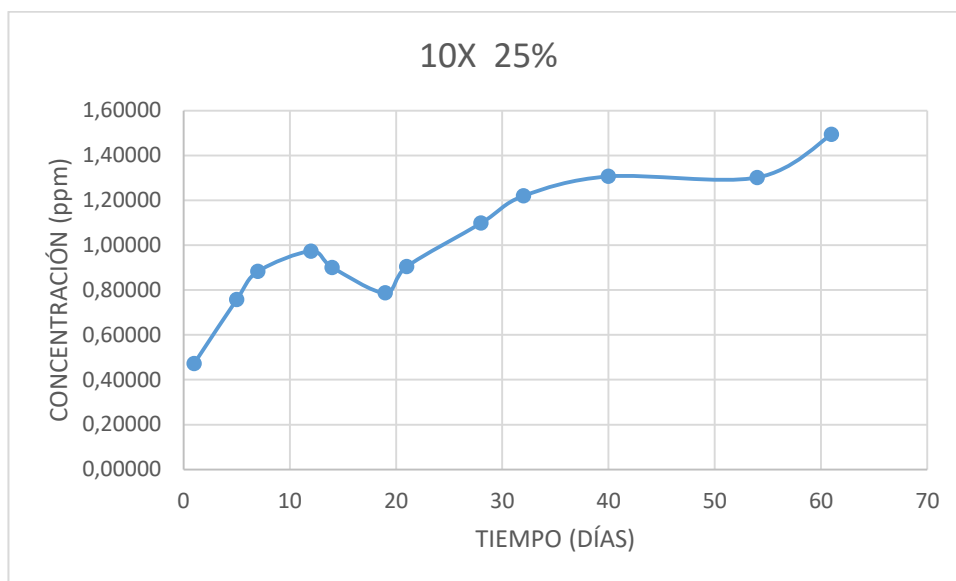


Figura 5. Curva de calibración en diclorometano por Cromatografía de gases (CG).

En esta curva (figura 5) se observa que los dos primeros puntos correspondientes a 0,05ppm y 0,1ppm están relativamente iguales en área, esto demuestra que no hay linealidad entre la concentración que se dice con lo detectado por el cromatógrafo, podría explicarse que a concentraciones bajas el método no es sensible, y se puede corroborar ya que se realizó por duplicado dicha curva (ver anexo 2), pero aun así en los demás puntos mostro una correcta linealidad por lo que se decidió trabajar con esta curva.

Se procedió a leer las muestras de los sistemas con hidrogeles de 10X (25% y 75% entrecruzamiento) y 5X (25% entrecruzamiento) correspondiente a la réplica 1 de los vasos del montaje (ver anexo 3).

Con los resultados entregados se obtuvo la gráfica 1:



Gráfica 1. Piriproxifen liberado al medio circundante a través del tiempo a partir del hidrogel con 10X y 25% de entrecruzamiento, replica 1.

En la gráfica 1 se observa un comportamiento similar al esperado para una liberación controlada mediante un mecanismo de hinchamiento. El hidrogel de quitosano absorbe apreciables cantidades de agua y se hincha, manteniendo la forma hasta alcanzar un equilibrio físico químico. Dicho estado se debe al balance de fuerzas osmóticas entre el agua que entra al polímero y la fuerza de las cadenas poliméricas en oposición a la expansión (Peñaranda Arredondo & Londoño López, 2009).

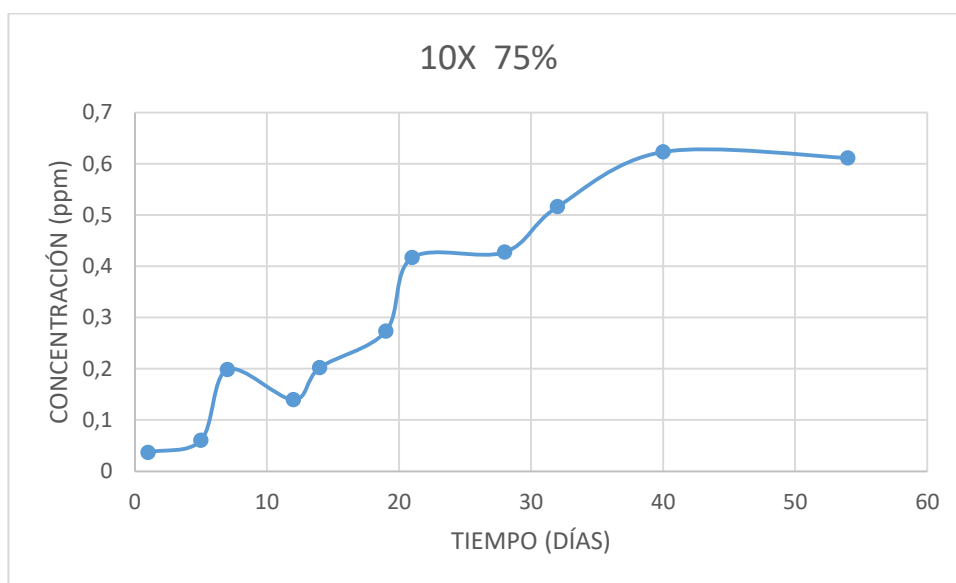
Analizándolo termodinámicamente, la entrada del agua al polímero que esta en este caso en estado vítreo, causa un aumento de la movilidad macromolecular, ocasionando una disminución de la temperatura de transición vítrea (T_g). Esto se da por la buena interacción agua-polímero, que permite al hidrogel alcanzar un estado elastomérico, facilitando la difusión del larvicida al medio exterior (Sáez, Hernández, & Sanz Angulo, 2002).

Es por esto que se da un incremento de la concentración del principio activo liberado a medida que pasan los días. Por otro lado, la diferencia de gradiente que existe entre el interior de la matriz y el medio exterior circundante también favorece la salida del larvicida, hasta que alcanza un equilibrio entre la concentración de la matriz y el medio de liberación. Esto mismo se puede observar en la gráfica 2.

También se puede observar que en las gráficas 1 y 2 hay puntos donde la concentración disminuye, como sucede los días 14, 19 y 21 de la gráfica 1 y el día 12 en la gráfica 2. Analizándolo desde el punto de vista de solubilidad se podría explicar diciendo que en esos días se pudo presentar una precipitación del piriproxifen o la formación de agregados de partículas imperceptibles a la

vista humana, ya que este presenta una solubilidad en agua de aproximadamente 3ppm/L a 20°C, (suponiendo que se libera solo el piriproxifen que es lo que estaría matando las larvas y no la emulsión en su conjunto) (Hertfordshire, 2017). Mientras que en las demás tomas de muestras se revolvió el vaso segundos antes, lo que podría facilitar el desagregado y una dispersión momentánea en el medio por el movimiento brusco en el sistema, esto representa un error experimental por parte del experimentador. Una manera de solucionar o disminuir dicha problemática sería mantener el montaje en constante agitación.

Por otra parte, se esperaría que el hidrogel con menor grado de entrecruzamiento tuviera una liberación mucho más rápida del larvicida, situación que se identifica al comparar las gráficas 1 y 2. Un detalle importante en la gráfica 1 es que las concentraciones reportadas son superiores a la cantidad de larvicida cargado en el hidrogel (10X=0,5ppm). Las posibles causas de esta situación podrían ser desde una mala homogenización de la emulsión comercial al preparar la solución de quitosano, generando algún agregado dentro del hidrogel, hasta un error instrumental en la cuantificación e integración de las áreas arrojadas en los cromatogramas.



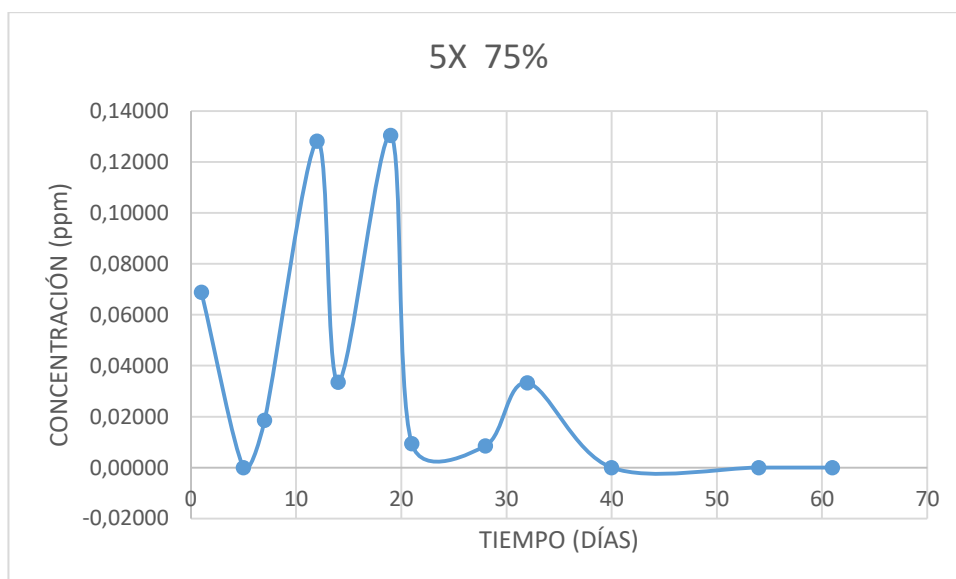
Gráfica 2. Piriproxifen liberado al medio circundante a través del tiempo a partir del hidrogel con 10X y 75% de entrecruzamiento, replica 1.

Continuando con el análisis de la muestra del hidrogel 5X-75% (ver grafica 3) no se observa la cinética de liberación controlada por un mecanismo de hinchamiento, según lo explicado en artículos y proyectos anteriores. Tampoco es claro por qué al pasar el tiempo la concentración en el medio acuoso disminuye cuando debería estarse acumulando. Esto se ve en los días 5, 7, 14, 21, 32, 40, 54 y 61; llegando en estos dos últimos a 0 ppm. Mientras que en los días 12 y 19 se obtuvieron concentraciones de 0,12814 ppm y 0,13049 ppm, respectivamente. Una posible explicación podría ser lo debatido anteriormente sobre la solubilidad de la molécula y la falta de agitación al extraer la alícuota.

Otra posible causa, sería la degradación de la molécula por alguna condición externa aún sin resolver. Cabe resaltar que la molécula de piriproxifen es estable a condiciones ambientales (Hertfordshire, 2017). En los sistemas de liberación se mantuvo a $25,0 \pm 0,1$ °C y la temperatura de secado de los hidrogeles fue de 28°C por 72 horas, además se encontraban protegidas de la luz en recipientes tapados y las alícuotas en los tubos eppendorf estaban cubiertas con papel.

En un artículo de la Universidad Nacional de Colombia donde se hizo un estudio para determinar las concentraciones de los insecticidas piriproxifen y diflubenzurón aplicables para el control del vector *Aedes aegypti*, mencionan que el piriproxifen se degrada rápidamente en el suelo en condiciones aeróbicas presentando una vida media de 36 días, y en criaderos con sedimentos la vida media es de 16 a 21 días (Salazar, 2012). Al comparar los resultados del artículo con los de esta investigación debemos resaltar que en nuestro caso las muestras se encontraban en un ambiente controlado, en un medio de agua destilada y desionizada; y la reducción de la concentración en el medio se observa en los días 5, 7, 14, es decir mucho antes de la vida media de los 36 días o 16 días como lo expresa el artículo.

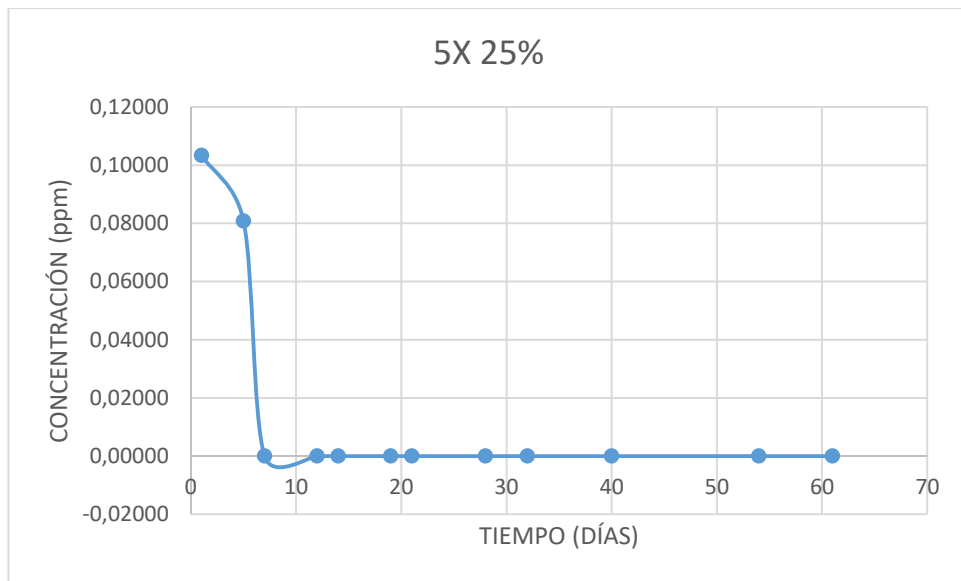
Se podría decir también que la concentración liberada era mucho menor que la dosis letal 99 (DL99: 0,05ppm) y que es probable que no haya sido detectada por el cromatógrafo, pero en algunas muestras se detectaron concentraciones mayores a 0,06ppm es decir, mayor que la DL99, y debió haberse mantenido o aumentado con los días.



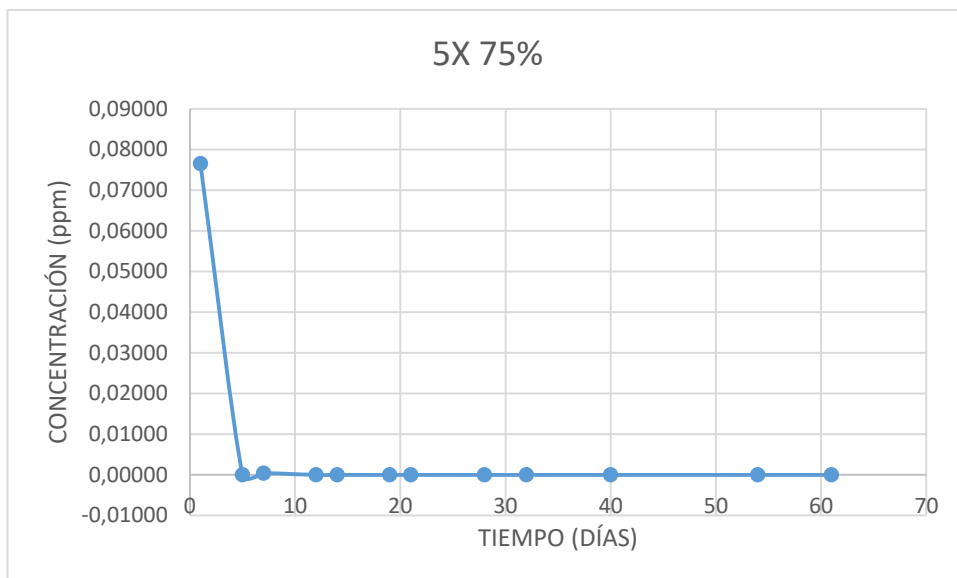
Gráfica 3. Piriproxifen liberado al medio circundante a través del tiempo a partir del hidrogel con 5X y 75% de entrecruzamiento, replica 1.

Se pasó a leer las muestras de la segunda replica de los hidrogeles con las mismas características de los anteriores: 10X y 5X a 25 y 75% de entrecruzamiento. Los resultados estuvieron totalmente en desacuerdo con la liberación controlada por un mecanismo de hinchamiento donde la concentración

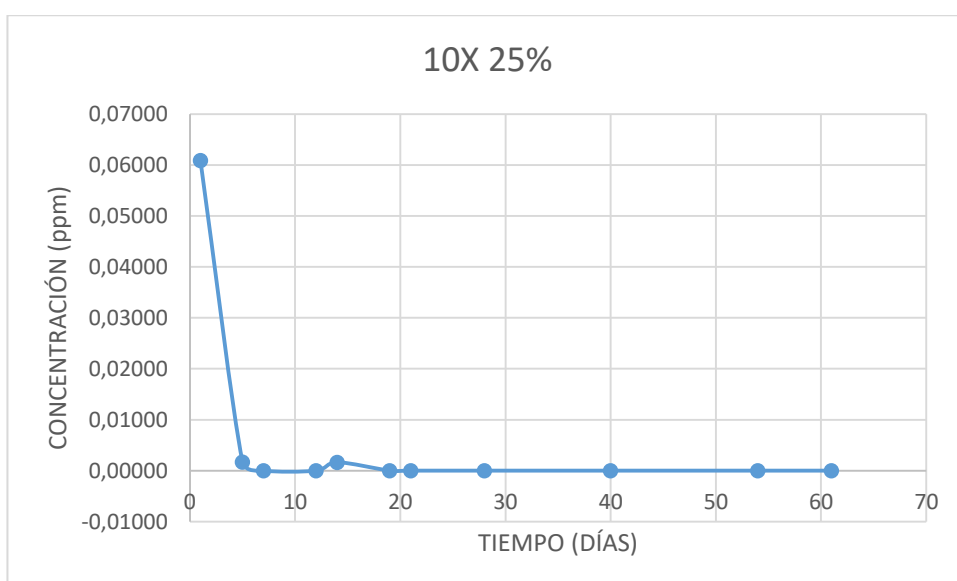
debió aumentar gradualmente en el medio de liberación. Este mecanismo explica que gracias al ingreso de agua a la matriz y la afinidad entre ellas se llega a una transición desde un estado vítreo a un estado elastomérico del hidrogel, haciendo que se hinche (expansión de las redes poliméricas), y por ende, facilite la difusión de la sustancia bioactiva al medio exterior. Cabe agregar que la difusión del principio activo se da paralelamente por la diferencia de concentración entre el interior del hidrogel y el medio circundante (Peñaranda Arredondo & Londoño López, 2009). Las concentraciones en partes por millón (ppm) dieron en muchas muestras 0 ppm y las señales en los cromatogramas no mostraban los picos (ver anexo 4).



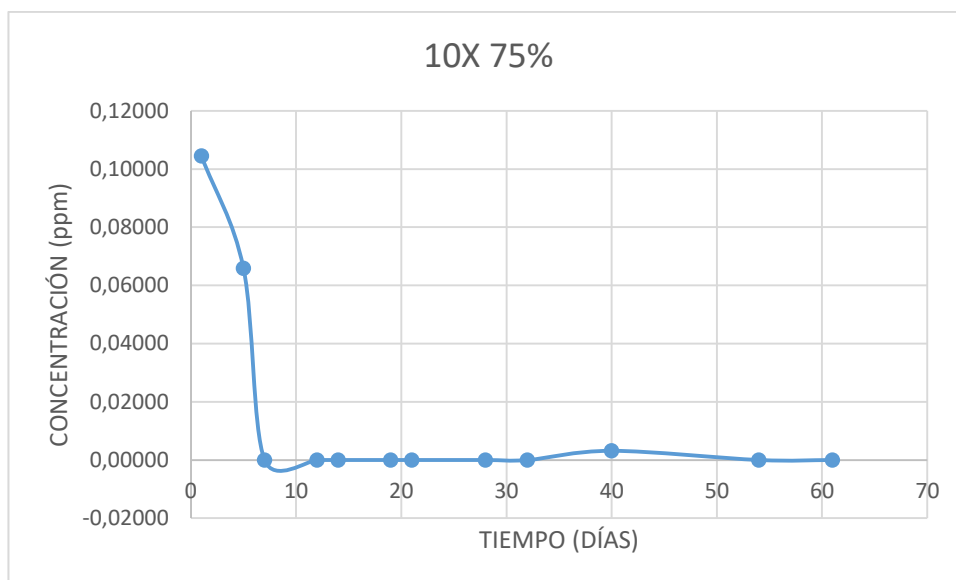
Gráfica 4. Piriproxifen liberado al medio circundante a través del tiempo a partir del hidrogel con 5X y 25% de entrecruzamiento.



Gráfica 5. Piriproxifen liberado al medio circundante a través del tiempo a partir del hidrogel con 5X y 75% de entrecruzamiento, replica 2.



Gráfica 6. Piriproxifen liberado al medio circundante a través del tiempo a partir del hidrogel con 10X y 25% de entrecruzamiento, replica 2.



Gráfica 7. Piriproxifen liberado al medio circundante a través del tiempo a partir del hidrogel con 10X y 75% de entrecruzamiento, replica 2.

En las gráficas 4, 5, 6 y 7 se evidencia la supuesta liberación del insecticida, se observa un comportamiento inusual donde la mayoría de los puntos arrojan una concentración de 0 ppm a pesar de que las primeras muestras ya habían mostrado alguna concentración liberada.

Esta situación no es comprensible como ya se ha dicho anteriormente, la concentración de larvicida en el vaso debió ir incrementando y no desaparecer totalmente. Situación que se puede seguir explicando con lo debatido anteriormente de la solubilidad y agitación del vaso antes de tomar la alícuota o errores experimentales, donde es el equipo el que no detecto la señal correctamente. En esta situación se podría hablar sobre el límite de detección del equipo y que tal vez las concentraciones sean muy pequeñas llegando a la incertidumbre si lo que muestra el equipo en los cromatogramas es realmente la cantidad de larvicida que existe en la muestra o es un error debido a la dispersión aleatoria (Judge, 2017). Esta dispersión se da cuando se compara un blanco y un estándar de muy baja concentración donde puede haber picos que no necesariamente corresponden a la sustancia, estos picos podrían ser ruido o sangrado de la columna del equipo cromatográfico. Además, la molécula puede encontrarse en concentraciones muy bajas durante la liberación y no ser detectada por captura de electrones. Esta situación trato de solucionarse empleando hidrogeles que contenían 5 y 10 veces la DL_{99} , pero parece no ser suficiente. Adicionalmente, el detector de captura de electrones es muy sensible a moléculas halogenadas y con bastantes electrones libres, situación de la que carece el piriproxifen.

En cuanto a los límites de detección y cuantificación, estos parámetros varían en cada estudio que se realiza, según el equipo a usar y la matriz a trabajar donde se desea determinar el insecticida. Cada artículo tiene sus valores de estos dos parámetros.

El límite de detección (LD) sería aquella “cantidad neta mínima detectable con probabilidad que la concentración de analito en el material estudiado es mayor que la del blanco” (Boqué, 2017). En cierta forma, en esta línea es difícil distinguir entre los verdaderos positivos y los aleatorios dispersos. Estadísticamente se le debe agregar 3 veces el valor de desviación estándar de la media de mediciones repetidas de un blanco, para ser el LD (Judge, 2017). En cuanto al límite de cuantificación (LQ) es mayor que el de detección, y le da una certeza al laboratorio de expresar la cantidad real del valor de la concentración hallada, siempre y cuando los resultados estén por encima del límite de cuantificación. Este LQ se calcula sumando diez veces la desviación estándar del promedio de réplicas del blanco. Agregar este valor permite que el LQ este muy lejos de la lectura del blanco, que podría ocurrir por la dispersión aleatoria (Judge, 2017).

Los valores de estos parámetros en los artículos encontrados no fueron referencias útiles para determinar el piriproxifen y el mejor método, ya que eran muy variados, desde 0,001mg/L (Chang Wung, 2017) hasta 0,06ppm, (Borrás, Sánchez, Muñoz, & Tortajada Genaro, 2011). Debido a esto, no es posible comparar los resultados de los artículos con nuestras curvas. Lo correcto es evaluar nuestros propios LD y LQ pero no fue posible.

Otra posible causa de estos valores de 0ppm podría ser que las concentraciones con las que se realizó la curva sean muy elevadas y lo que está en las muestras no está dentro de la curva. Con esta suposición, se decidió realizar una nueva curva de calibración con concentraciones menores, esto demostraría que existiría presencia del piriproxifen mas no por qué se comenzó a disminuir la concentración en el medio. Se realizó el mismo procedimiento para las disoluciones como se realizó en la curva de la figura 5, se trabajó con el mismo método en el cromatógrafo de gases y a partir de esta curva se hizo la cuantificación de los resultados donde no habían dado anteriormente las muestras, aun así los resultados fueron totalmente iguales como se observa en la gráficas 4,5, 6 y 7.

2.6.2.1 Búsqueda de alternativas y nuevos métodos para lectura en el cromatógrafo de gases.

Debido a los problemas que se presentaron, se decidió hacer la lectura de las muestras directamente en agua y no hacer la extracción con diclorometano. De esta forma se esperaba reducir en un gran porcentaje los errores experimentales. También se empezó una búsqueda bibliográfica exhaustiva de métodos para determinar piriproxifen por cromatografía de gases.

Dentro de los muchos artículos encontrados, que determinaban insecticidas en diferentes matrices y cuantificaban el piriproxifen, se decidió trabajar basándose en uno titulado: “Multiresidue method for analysis of pesticides in pepper and tomato by gas chromatography with nitrogen–phosphorus detection.” Considerándose cambiar el detector de captura de electrones por el NPD puesto que podría tener una mayor sensibilidad a la molécula de piriproxifen (Fenoll, Hellin, Martínez, Miguel, & Florez, 2007). Se realizaron los cambios respectivos

en el método cromatográfico y se leyeron las soluciones del estándar para la curva de calibración. Los cromatogramas obtenidos no muestran ningún pico, solo la línea base. A continuación se muestran algunos cromatogramas arrojados por el equipo con este detector (figuras 7, 8 y 9), desde la muestra menos concentrada (0,05ppm) hasta la más concentrada de 1ppm.

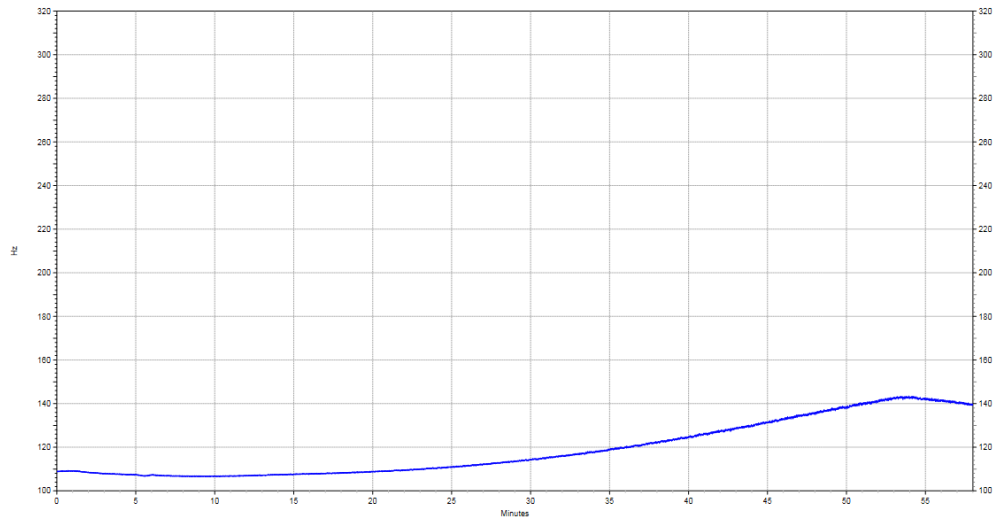


Figura 6. Cromatograma de 0,05ppm de Piriproxifen en Agua destilada con NPD.

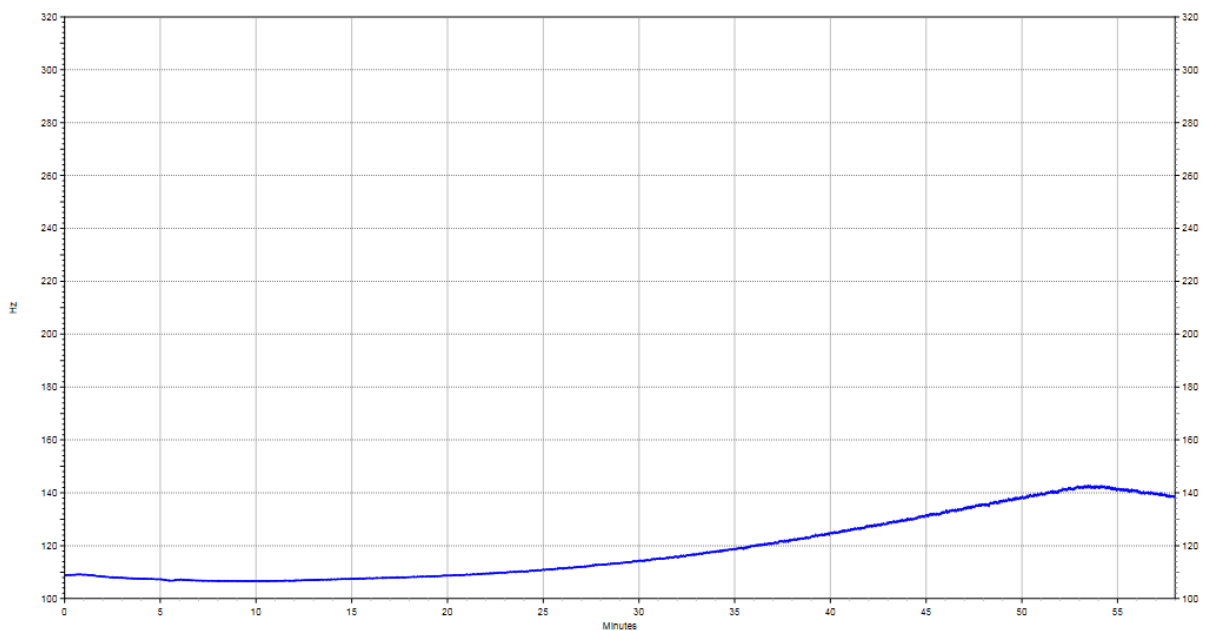


Figura 7. Cromatograma de 0,3ppm de Piriproxifen en Agua destilada con NPD.

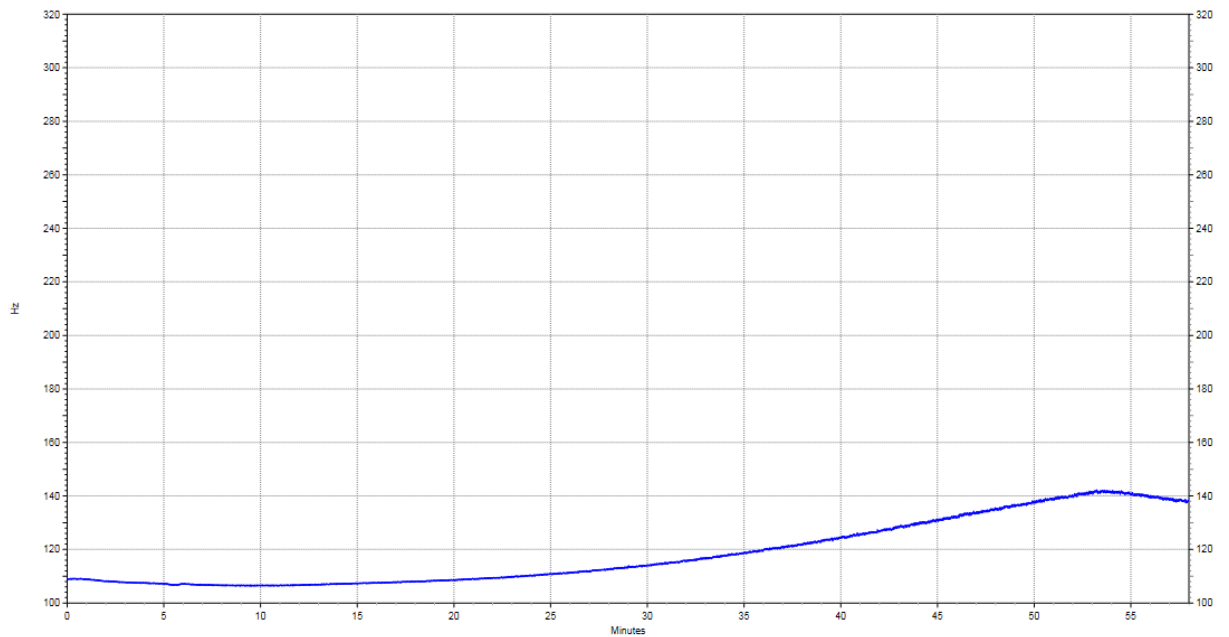


Figura 8. Cromatograma de 1 ppm de Piriproxifen en Agua destilada con NPD.

En el artículo lograron determinar esta sustancia, pero se debe tener en cuenta la metodología usada para la extracción y limpieza del insecticida, ya que la matriz analizada fue la pimienta y el tomate; además usaron un solvente orgánico para la lectura en el cromatógrafo de gases con detector de Nitrógeno-Fosforo. En nuestro caso, se usó como solvente el agua y esto puede afectar la lectura en la columna ya que lo ideal es usar solventes como muestras altamente volátiles en cromatografía de gases.

Ante esta situación se procedió a usar nuevamente el detector de captura de electrones. Se siguió con la búsqueda bibliográfica buscando nuevos métodos de análisis en el CG que permitieran determinar y cuantificar el piriproxifen.

En la mayoría de los artículos para la determinación de insecticidas se utilizó el cromatógrafo de gases acoplado a masas, situación que no era homologa al equipo de la universidad. Pero a pesar de esto se emplearon algunos de estos métodos analíticos como referencia para realizar modificaciones al método en cuanto a rampas de temperatura, flujo de gas portador (helio), volumen de inyección, entre otros parámetros, para hallar el método que permitiera leer los estándares de piriproxifen y las muestras de liberación. Entre los artículos consultados están:

“Multiresidue method for the determination of pesticides in Oolong tea using QuEChERS by gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry” (Chang Wung, 2017).

“Multifamily determination of pesticide residues in soya-based nutraceutical products by GC/MS–MS” (Páleníková, y otros, 2015).

“Determination of pesticides in edible oils by liquid chromatography-tandem mass spectrometry employing new generation materials for dispersive solid phase extraction clean-up” (Dias, Cutillas, Lozano, Pizzutti, & Fernandez Alba, 2016).

“Development of a gas chromatography–mass spectrometry method for the determination of pesticides in gaseous and particulate phases in the atmosphere” (Borrás, Sánchez, Muñoz, & Tortajada Genaro, 2011).

“UNE-EN ISO/IEC 17025:2005 accredited method for the determination of 121 pesticide residues in fruits and vegetables by gas chromatography–tandem mass spectrometry” (Camino Sanchez, y otros, 2011).

Con base en estos artículos y otros más se pensó en leer estándares del piriproxifen muy concentrados (10 ppm) para obtener un pico y tener la seguridad de que fuese el larvicida. Posteriormente, se leerían los puntos de la curva, desde el menos concentrado (0,005ppm) hasta el más concentrado 1ppm. Sin embargo, para estas concentraciones no se presentó una correcta lectura (se esperaba linealidad) y sus coeficientes de correlación fueron muy malos. A continuación se presentan algunas de las curvas que se realizaron con diferentes métodos aplicados (figura 10, 11 y 12).

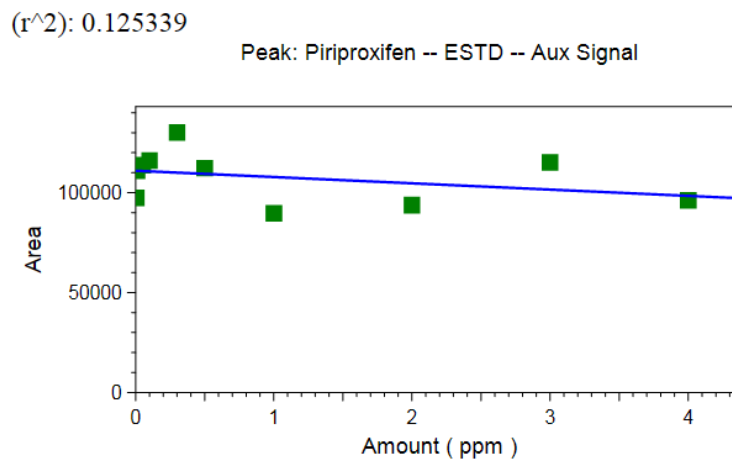


Figura 9. Curva de calibración de piriproxifen en agua destilada (10 concentraciones desde 0,005ppm hasta 4ppm).

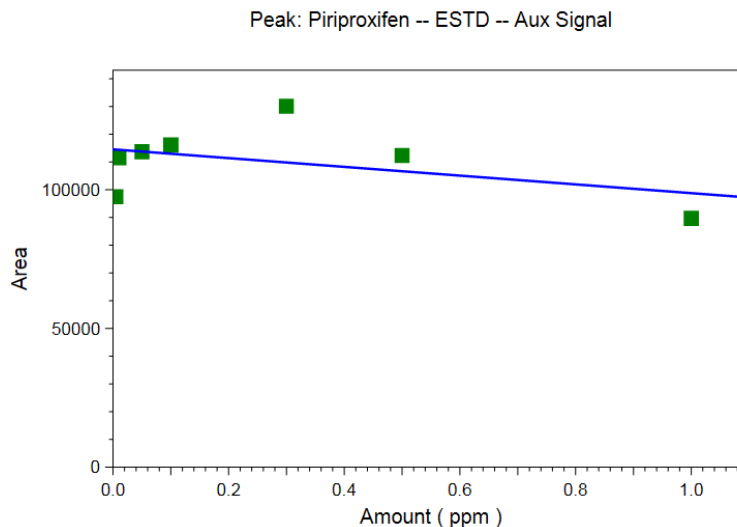


Figura 10. Curva de calibración de piriproxifen en agua destilada (7 concentraciones desde 0,005ppm hasta 1ppm).

En estas curvas no se observa una correcta linealidad, en la figura 10 se observa que para el punto 5 (0,3ppm) el pico tiene un área mucho mayor que la del punto 10 (4ppm). De igual forma, en la figura 11 se observa que el área del punto 5 (0,3ppm) es mayor el área que el punto 7 (1 ppm). Entre las posibles causas de la variabilidad en la lectura, podemos contemplar el método analítico r utilizado y errores experimentales a la hora de la disolución y preparación de la curva. Para tener certeza de esto último se volvieron a preparar las soluciones del estándar para la curva, se repitió todo exactamente igual y nuevamente la linealidad fue muy mala como se observa en la figura 12.

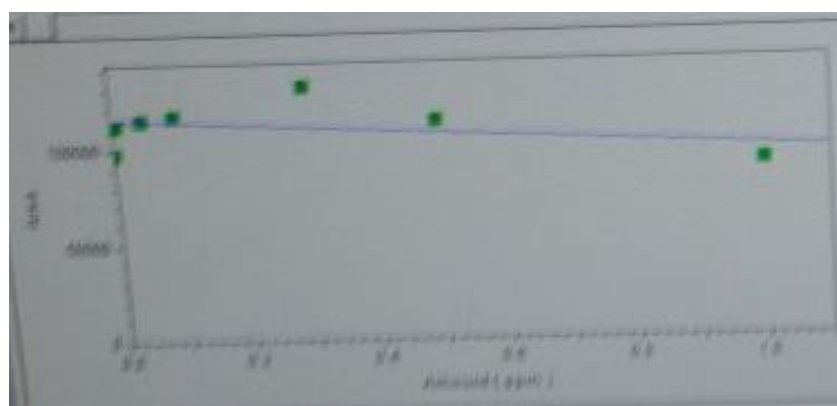


Figura 11. Curva de calibración de piriproxifen en agua destilada (7 concentraciones desde 0,005ppm hasta 1ppm; mismo método que la realizada en la figura 12).

En esta curva el R^2 fue de 0.199294 mientras que en la de la figura 10 fue de 0.193294, muy parecido.

Además, cuando se realizó la curva en diclorometano si se mostraba linealidad y el proceso de preparación de la curva fue exactamente igual, solo cambiaba el solvente que en estos últimos casos fue agua destilada. Por lo que atribuir un error en la preparación en la curva después de corroborarse tantas veces no es probable.

Otra posible causa, como se mencionó anteriormente, puede ser al método de análisis del equipo, no porque el equipo estuviese malo, sino no que tal vez no fuese sensible según el método trabajado. Por ejemplo, el agua podría no ser un buen solvente para la columna del equipo y la lectura de la molécula se vería alterada, otra problemática podría ser que las concentraciones en las que se hizo la curva fueron muy bajas para el detector de captura de electrones, o los rangos de temperatura tampoco eran adecuados. Aunque se consultaron artículos publicados, este equipo no está acoplado a masas y eso puede variar los resultados observados por los autores con respecto a lo obtenido en nuestro equipo. Además, emplearon solventes volátiles en lugar de agua (figura 4).

Finalmente, dada todas estas problemáticas que sucedieron y siguieron sin respuesta al trabajar directamente en agua para la determinación del piriproxifen, se decidió dejar hasta aquí el estudio de la cinética de liberación del piriproxifen liberado de la matriz de quitosano.

2.6.3. Ajuste a los modelos matemáticos de *Higuchi* y *Korsmeyer y Peppas*

Aunque los resultados obtenidos para los hidrogeles 10X-25% y 10X-75% (ver gráfica 1 y 2) no son los más adecuados, se decidió realizar un ajuste a dos modelos matemáticos (*Higuchi* y *Korsmeyer y Peppas*) con dichas gráficas, basados en las ecuaciones 1 y 2, respectivamente para cada modelo, con el objetivo de tener una aproximación a la cinética que posiblemente se pudiese presentar durante el proceso de liberación del larvicida. Para este ajuste se tomaron los puntos en cada una de las gráficas donde se tenían una mejor linealidad de la liberación (estos valores y las variables trabajadas para el ajuste se pueden ver en el anexo 5). Los resultados obtenidos del ajuste a los modelos se observan en la tabla 3.

Tabla 3. Ajuste de los perfiles de liberación del hidrogel 10X-25% y 10X-75% a los modelos matemáticos de *Higuchi* y *Korsmeyer y Peppas*.

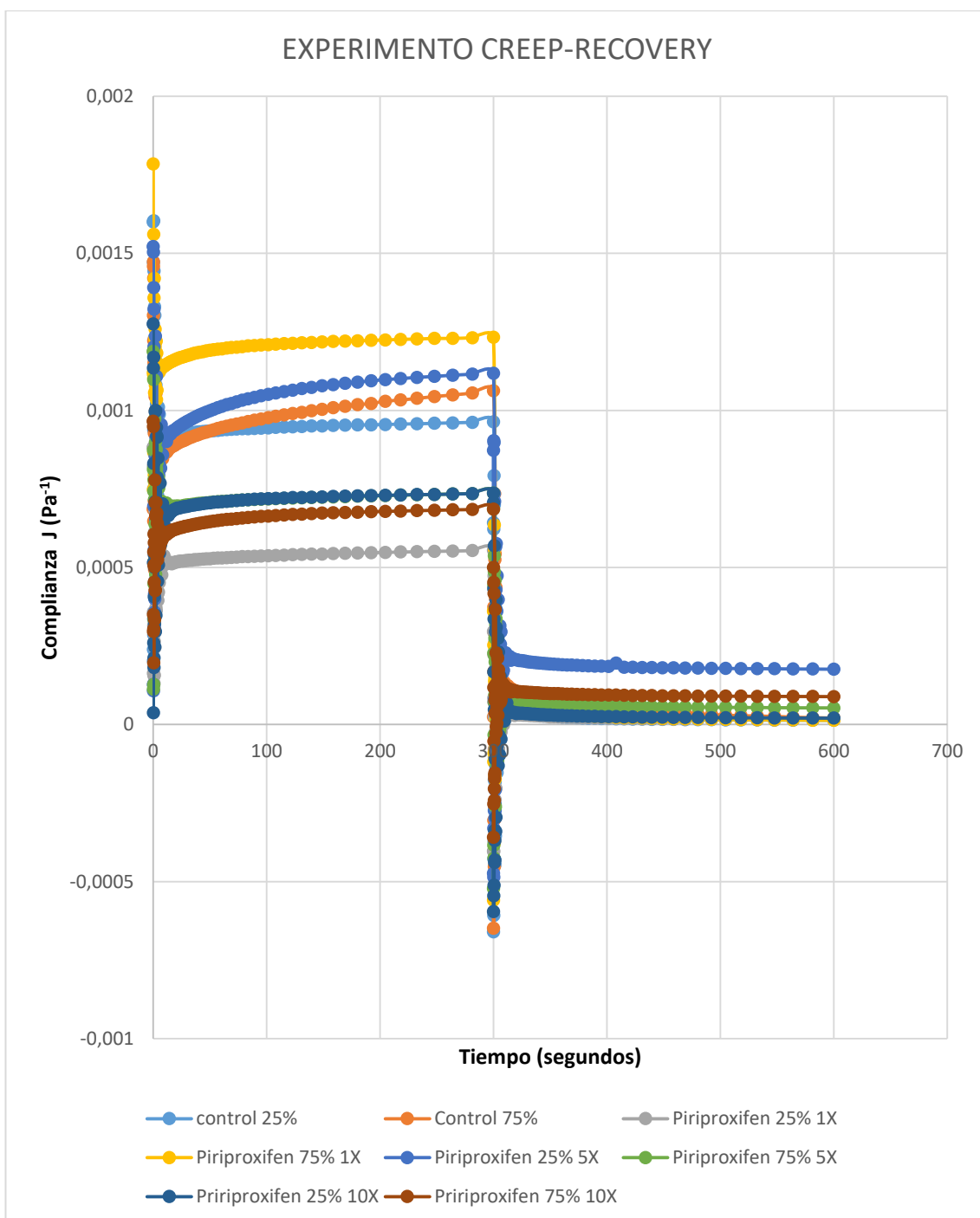
HIDROGEL	<i>Higuchi</i>		<i>Korsmeyer y Peppas</i>		
	k	R ²	k	R ²	n
10X-25%	0,0865	0,9501	0,331283	0,9807	0,259
10X-75%	0,18	0,9259	0,04251	0,9368	0,8033

Se evidencia en la tabla 3 que el hidrogel de 10X-25% presenta una mejor correlación al ajuste del modelo de *Korsmeyer y Peppas* (R²: 0,9807), pero el valor de n es de 0,259 indicando que suceden varios procesos simultáneos al

fenómeno de difusión (Aragón Fernández, González Santos, & Fuentes Estevez, 2010), como en el caso de materiales porosos donde se combinan los mecanismos de difusión parcial a través del hinchamiento de una matriz y por poros llenos de agua (Aragón Fernández, González Santos, & Fuentes Estévez, 2009). En el hidrogel de 10X-75% la correlación no dio tan alta ($R^2:0,9368$) como en el hidrogel anterior, pero a diferencia de este, mostro un n de 0,8033 lo que indicaría una difusión anómala o no Fickiana (Aragón Fernández, González Santos, & Fuentes Estévez, 2009), es decir, pudo haberse degradado o erosionado el hidrogel y la liberación no es totalmente controlada.

En cuanto al ajuste en el modelo de Higuchi el hidrogel de 10X-25% volvió a presentar mejor correlación ($R^2:0,9501$) que el de 10X-75% ($R^2:0,9259$), pero estas diferencias no distinguen claramente si el entrecruzamiento afecto la liberación modificando en cierta medida el mecanismo. En definitiva no se puede tener certeza de que modelo sigue la liberación del larvicida en la matriz de quitosano, teniéndose un leve mejor ajuste al de Korsmeyer y Peppas.

2.6.4 Estudio de las propiedades mecánicas del hidrogel de quitosano (creep-recovery).



Gráfica 8. Experimento de creep-recovery de los diferentes hidrogel de quitosano sintetizados.

Todos los hidrogeles sintetizados fueron llevados al análisis de fluencia-recuperación; la región de fluencia comprende el tiempo de 0s hasta los 300s que es el punto máximo de la deformación e inmediatamente después empieza el proceso de recuperación (se deja de aplicar el esfuerzo) y se observa el comportamiento del hidrogel hasta los 600s. Se observa en la gráfica 8 que todos los hidrogeles presentan una deformación residual irrecuperable, es decir, no vuelven a su estado original (100%) después de dejar de aplicarse el esfuerzo para la deformación. También se observa que el hidrogel cargado con 1X y 75% (amarillo) presenta una alta resistencia a la deformación mientras el de la más baja resistencia es el hidrogel de 1X-25% (gris); la comparación de estas dos composiciones ratifica el efecto del grado de entrecruzamiento, se esperaría que un mayor grado de entrecruzamiento disminuya la fluencia del hidrogel haciendo más difícil su deformación, debido a un mayor número de uniones entre las cadenas de polímero. En cuanto a la región de recuperación es difícil observar con distinción cada uno de los hidrogeles, ya que presentan líneas con valores muy parecidos, pero para eso se muestran los resultados de la tabla 4.

Tabla 4. Valores de deformación y recuperación en porcentajes para cada uno de los hidrogeles de quitosano sintetizados.

Muestra	Deformación, S (%)			Total Recuperación, R (%)
	J_0 / J_{max}	J_{∞} / J_{max}	J_{kv} / J_{max}	
Control 25%	96,9	1,4	1,8	98,6
Control 75%	87,2	1,9	10,9	98,1
Piriproxifen 25% 1X	95,1	2,6	2,2	97,4
Piriproxifen 75%1X	97,2	1,1	1,7	98,9
Piriproxifen 25% 5X	91,7	15,7	-7,4	84,3
Piriproxifen 75% 5X	95,9	7,2	-3,0	92,8
Piriproxifen 25% 10X	95,6	2,7	1,7	97,3
Piriproxifen 75% 10X	95,6	12,9	-8,5	87,1

En la tabla 4 se puede observar los valores de deformación de cada uno de los hidrogeles sintetizados, donde J_0 es la complianza del flujo estacionario, J_{max} y J_{∞} son los valores reportados por el equipo a los 300 segundos y 600 segundos respectivamente.

La fluencia fue analizada siguiendo el modelo de Burger (ecuación 4) que combina los modelos de Maxwell y Kelving-Voight.

$$J(t) = \left(\frac{1}{G_0} + \frac{1}{n_0} \right) + \frac{1}{G_1} \left[1 - \exp\left(-\frac{tG_1}{n_1}\right) \right] \quad (4)$$

$J(t)$ Representa la complianza en cualquier tiempo, G_0 es el modulo elástico instantáneo del modelo de Maxwell y G_1 es el modulo elástico del modelo de Kelving-Voight, n_0 es la viscosidad residual del elemento de Maxwell y n_1 es denominada como la viscosidad interna en el modelo de Kelving-Voight (García, Ruiz Durántez, & Valderruten, 2017).

Por otro lado, la región viscoelástica lineal se ajusta a la ecuación 5

$$J(t) = \left(J_0^e + \frac{t}{n_0} \right) \quad (5)$$

Cuando se alcanza un estado de equilibrio, en la mayoría de los casos se representa mediante la ecuación 6

$$J_0^e = \frac{1}{G_0} + \frac{1}{G_1} \quad (6)$$

Los valores experimentales de $J(t)$ en el proceso de recuperación experimental son ajustado a la ecuación 7.

$$J(t) = (J_\infty + J_{KV}) \exp(-Bt^C) \quad (7)$$

Donde B y C son parámetros que definen la velocidad de recuperación del sistema, J_∞ es la complianza residual, J_{KV} es la complianza máxima del elemento Kelvin-Voight y t es el tiempo.

La deformación de Maxwell J_0^e se obtiene a través de la ecuación 8.

$$J_0^e = (J_{max} + J_{KV}) \quad (8)$$

Que como se dijo anteriormente J_{max} corresponde a la deformación máxima experimentada en el valor de complianza de los 300s.

Asi, finalmente con la ecuaciones mostradas anteriormente es posible calcular los porcentajes de deformación (S%) y recuperación (R%) de cada elemento del modelo de Burger. Valores que se muestran en la tabla 3. Donde $R = [(J_{max} - J_\infty) / J_{max}] \times 100$ (9) (García, Ruiz Durántez, & Valderruten, 2017).

Analizando los valores de recuperación en la tabla 3 se logra observar que la mayoría de los hidrogeles presentan un alto porcentaje de recuperación (mayor del 92%), esto nos indica que los hidrogeles presentan un comportamiento viscoelástico, es decir, tienen una recuperación parcial y no total (VISCOELASTICIDAD, 2017). Los hidrogeles del 25%-5X y 75%-10X tienen una recuperación de 84,3% y 87,1% respectivamente. Si comparamos estos con los demás hidrogeles son los de menor recuperación, condición que puede deberse al proceso de síntesis, desde su preparación hasta la última etapa que corresponde al despegue del hidrogel del molde, en este proceso, se pudo haber agrietado mínimamente el hidrogel o perder en una muy pequeña porción del borde y esto pudiese modificar drásticamente las mediciones al no estar en perfectas condiciones la matriz.

Se pudiese tener la explicación de que es causa de la concentración de piriproxifen y el porcentaje de entrecruzamiento en su conjunto, si el estudio tuviera réplicas de ellos, que corroboraran dicho valores. O si no, definitivamente se le pudiese atribuir al proceso de síntesis.

Dentro de este experimento es importante evaluar si hubo diferencias entre los porcentajes de entrecruzamiento a la misma concentración del piriproxifen, pero al observar tabla 3, vemos por ejemplo que en los controles la variación del entrecruzamiento no tiene una diferencia significativa con la recuperación (diferencia que es solo del 0,5%); de igual forma los hidrogeles de 1X con 25% y 75% de entrecruzamiento la diferencia es solo de 1,5%.

Ya en las matrices de 5X y 10X si se observa la diferencia de la recuperación según el entrecruzamiento, teniendo mayor recuperación el de 75% de entrecruzamiento con concentración de 5X (92,8% recuperación) que el de 25% a la misma concentración (84,3% recuperación). En el hidrogel de 10X-25% tiene mayor porcentaje de recuperación (97,3%) que el de 10X-75% (87,1%), es aquí donde no concuerdan los valores con los controles, que la diferencia del entrecruzamiento en los controles es de solo 0,5% mientras que en estas matrices (10X a 25% y 75%, y 5X a 25% y 75%) la diferencia en la recuperación cambiando el porcentaje de entrecruzamiento con la misma concentración es mayor al 8% para cada uno de los hidrogeles tanto 10X como de 5X, por lo que se se puede atribuir esta diferencia a la cantidad del piriproxifen que al ser mucho mayor (más del 1X) afecte su interacción con el polímero y lo haga más o menos viscoso, o también se puede deber a lo explicado anteriormente, debido al despegue del hidrogel del molde donde pudo agrietarse y también afectar la recuperación,(ver tabla 3).

Evaluando los hidrogeles manteniendo la variable de entrecruzamiento igual y cambiando las concentraciones del piriproxifen se observa que no hay mayor diferencia entre el control de 75% de entrecruzamiento (98,1% recuperación) con el hidrogel de 1X de igual entrecruzamiento (98,9% recuperación). Al comparar estos dos valores con el del hidrogel de 5X-75% (92,8% recuperación) se observa que ha disminuido la recuperación, por lo que se llegaría a decir que la carga del piriproxifen al aumentar su concentración afectaría el comportamiento viscoelástico de la matriz, haciéndolo un poco más viscoso. Esto se corroboraría con el hidrogel 10X-75% sino se tuviese la incertidumbre de que este presentara un error de síntesis. De igual forma se observa con el hidrogel de 25% de entrecruzamiento que al comparar el control (98,6% recuperación) con el de 1X (97,4% recuperación) la diferencia de recuperación es mínima (1,2%), y al comparar estas dos matrices con el de 10X (97,3%) no hay cambio significativo con el comportamiento visco-elástico del hidrogel.

En conclusión se logró determinar que los hidrogeles de quitosano, tanto los controles como los cargados con piriproxifen, presentan un comportamiento viscoelástico independiente de la concentración de larvicida o grado de entrecruzamiento. Además, no hay diferencia alguna en dicho comportamiento en los hidrogeles con 25% de entrecruzamiento al cambiar la concentración de piriproxifen respecto a los controles. Mientras que en los hidrogeles de 75% de entrecruzamiento al cambiar la concentración del larvicida no se tiene certeza si afecta al comportamiento visco-elástico, ya que la variación que se presento pudo deberse a errores experimentales, exactamente en el guardado de los hidrogeles, como se mencionó anteriormente.

2.7 CONCLUSIONES

- Se obtuvieron hidrogeles de quitosano con 2 grados de entrecruzamiento (25% y 75%) y cargados con tres concentraciones diferentes de piriproxifen (1X, 5X y 10X; X es la dosis letal₉₉ = 0,05ppm).
- No se pudo establecer un método adecuado para la determinación de piriproxifen en el cromatógrafo de gases, a pesar de usar dos tipos de detectores diferentes (ECD y NPD) y solventes polares y apolares para la lectura (Diclorometano y agua destilada).
- Se ajustaron los resultados de la réplica 1 de los hidrogeles 10X-25% y 10X-75% (gráficas 1 y 2) a los modelos de *Higuchi* y *Korsmeyer* y *Peppas*, dando un mejor ajuste a modelo de *Korsmeyer* y *Peppas* ($R^2=0,9807$ para 10X-25% y $R^2=0,9368$ para 10X-75%. En *Higuchi*: $R^2=0,9501$ para 10X-25% y $R^2= 0,9259$ para 10X-75%).
- No se pudo determinar la cinética de liberación del piriproxifen a partir de la matriz de quitosano, ni asemejarlo a un modelo matemático, en los hidrogeles de 5X-25%, 5X-75% (replica 1 y 2), 10X-25% (replica 2) y 10X-75% (replica 2) debido a que los resultados no mostraron linealidad en la liberación.
- No se logró identificar porque las muestras descendían su concentración de larvicida en el medio al pasar el tiempo, según los valores arrojados por el CG, siendo posibles errores experimentales e instrumentales o una degradación de la molécula.
- Se logró determinar que los hidrogeles de quitosano, tanto los controles como los cargados con piriproxifen, presentan un comportamiento viscoelástico indistinto de su concentración (10X, 5X, 1X, donde $X=DL_{99}=0,05ppm$) o entrecruzamiento (25% y 75%)

2.8 RECOMENDACIONES

- Utilizar concentraciones de piroproxifen mucho más altas en los hidrogeles, por ejemplo 100X ($X=DL99=0,05\text{ppm}$), con los dos grados de entrecruzamiento (25% y 75%) para facilitar la lectura en el CG, evitando así el error por sensibilidad del equipo con la molécula.
- Usar FID como detector para determinar la concentración de piroproxifen liberada, debido a que esta molécula presenta una gran cantidad de carbonos, que podría facilitar la lectura por este detector. Además, usar solventes apolares como diclorometano o hexano para la lectura en el cromatógrafo de gases.
- Tener el montaje de los vasos con el agua destilada y el hidrogel en constante agitación y termostatzado. Esto facilitaría la dispersión o solubilización de la molécula en el medio y evitaría precipitación o agregados que se pudiesen formar debido a la solubilidad del piroproxifen en el medio que es agua.
- Usar espectrometría de masas para cuantificar el piroproxifen y determinar de esta forma la presencia de la molécula en el medio. Lo ideal sería determinar la cinética de liberación en un CG-acoplado a masas.
- En su defecto se podría usar UHPLC-espectrometría de masas para determinar el piroproxifen y así evaluar la cinética de liberación.
- Utilizar otros modelos matemáticos para evaluar la liberación del piroproxifen donde se tenga en cuenta que este ya se encuentra en una matriz previa al hidrogel (el piroproxifen está inmerso en una emulsión que es lo que se adiciona al hidrogel).
- Realizar un análisis como calorimetría diferencial de barrido (DSC), para evaluar diferentes propiedades del hidrogel, tanto de su temperatura de transición vítrea como su posible descomposición o degradación.

3 REFERENCIAS

Páleníková, A., Martínez Domínguez, G., Arrebola, F., Gonzalez, R., Svetlana, H., & Garrido Frenich, A. (Abril de 2015). *Multifamily determination of pesticide residues in soya-based nutraceutical products by GC/MS-MS*. Obtenido de ScienceDirect:
<http://nebulosa.icesi.edu.co:2621/science/article/pii/S030881461401663X>

Aragon Fernández, J., Gonzáles Santos, R., & Fuentes Estévez, G. (21 de Marzo de 2009). Obtenido de Cinética de liberación de cefalexiana desde un biomaterial:
<https://www.analesranf.com/index.php/aranf/article/viewFile/978/969>

Aragón Fernández, J., González Santos, R., & Fuentes Estévez, G. (21 de Marzo de 2009). Obtenido de
<https://www.analesranf.com/index.php/aranf/article/viewFile/978/969>

Aragón Fernández, J., González Santos, R., & Fuentes Estevez, G. (2010). *redaly.org*. Obtenido de Estudio in vitro de liberación de fármacos desde un biomaterial compuesto:
<http://www.redalyc.org/pdf/1816/181620500008.pdf>

BAYER. (14 de Abril de 2017). *CropScience*. Obtenido de Admiral:
<http://www.cropscience.bayer.cl/soluciones/fichaproducto.asp?id=235>

Berti, J., Manzo, D., Ramos, M., & Guerra, L. A. (Enero de 2013). *Scielo*. Obtenido de Eficacia y actividad residual del regulador de crecimiento pyriproxyfen sobre larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio:
http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482013000100007

Bisset, J. (19 de Julio de 2002). *Revista cubana medicina tropical*. Obtenido de Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia:
http://www.bvs.sld.cu/revistas/mtr/vol54_3_02/mtr05302.htm

Bisset, J. A. (19 de Julio de 2002). *Revista Cubana Med*. Obtenido de Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia:
http://www.bvs.sld.cu/revistas/mtr/vol54_3_02/mtr05302.htm

Blasco, L. (12 de Enero de 2016). *BBC MUNDO*. Obtenido de Así es el mosquito "Aedes aegypti", causante del zika, el dengue y la chikungunya:
http://www.bbc.com/mundo/noticias/2016/01/160112_salud_mosquito_enfermedades_zika_dengue_chikungunya_america_latina_lb

- Boqué, R. (Julio de 2017). *EL LÍMITE DE DETECCIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO*. Obtenido de Universitat Rovira i Virgili:
<http://www.quimica.urv.es/quimio/general/lod.pdf>
- Borrás, E., Sánchez, P., Muñoz, A., & Tortajada Genaro, L. (Agosto de 2011). *Development of a gas chromatography–mass spectrometry method for the determination of pesticides in gaseous and particulate phases in the atmosphere*. Obtenido de ScienceDirect:
<http://nebulosa.icesi.edu.co:2621/science/article/pii/S0003267011006489>
- Bruice, P. Y. (2007). *Química Organica*. Pearson.
- Camino Sanchez, F., Zafra Gómez, A., Ruiz García, J., Bermúdez Peinado, R., Ballesteros, O., Navalón, A., & Vílchez, J. (Mayo de 2011). *UNE-EN ISO/IEC 17025:2005 accredited method for the determination of 121 pesticide residues in fruits and vegetables by gas chromatography–tandem mass spectrometry*. Obtenido de ScienceDirect:
<http://nebulosa.icesi.edu.co:2621/science/article/pii/S0889157510003170>
- Chang Wung, C. (Agosto de 2017). *Multiresidue method for the determination of pesticides in Oolong tea using QuEChERS by gas chromatography–triple quadrupole tandem mass spectrometry*. Obtenido de ScienceDirect:
<http://nebulosa.icesi.edu.co:2621/science/article/pii/S0308814617302832>
- Dias, J., Cutillas, V., Lozano, A., Pizzutti, I., & Fernandez Alba, A. (Septiembre de 2016). *Determination of pesticides in edible oils by liquid chromatography-tandem mass spectrometry employing new generation materials for dispersive solid phase extraction clean-up*. Obtenido de ScienceDirect:
<http://nebulosa.icesi.edu.co:2621/science/article/pii/S0021967316310135>
- Díaz, C. (Diciembre de 2013). Estudio de la biosorción de cromo (VI) con quitosano cuaternario reticulado para su aplicación en biorremediación de aguas contaminadas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 79(4), 304-318.
- Fenoll, J., Hellin, P., Martínez, C., Miguel, M., & Florez, P. (2007). *Multiresidue method for analysis of pesticides in pepper and tomato by gas chromatography with nitrogen–phosphorus detection*. Obtenido de ScienceDirect:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814607000556>
- García, J., Ruiz Duránte, E., & Valderruten, N. E. (2017). Interpenetrating polymer networks hydrogels of chitosan and poly(2-. *ELSEVIER*, 55.
- Hertfordshire, U. o. (21 de Abril de 2017). *University of Hertfordshire*. Obtenido de PPDB: Pesticide Properties DataBase:
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/Reports/574.htm>

- Judge, M. (Julio de 2017). *LQ y LD en los métodos analíticos*. Obtenido de eHow en español: http://www.ehowenespanol.com/lq-ld-metodos-analiticos-info_202729/
- Ladino Beltran, L. (2016). *LIBERACIÓN CONTROLADA DEL LARVICIDA NOVALURON PARA EL*. Santiago de Cali: Universidad Icesi.
- Melaj, M. A., & Daraio, M. E. (7 de Mayo de 2011). *Universidad de Buenos Aires*. Obtenido de MATRICES POLIMÉRICAS SÓLIDAS BASADAS EN QUITOSANO Y XANTANO PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FERTILIZANTES:
http://www.exeedu.com/publishing.cl/av_cienc_ing/2012/Vol3/Nro1/1-ACI1081-11-full.pdf
- OMS. (14 de Abril de 2017). Obtenido de Lucha contra el dengue:
<http://www.who.int/denguecontrol/mosquito/es/>
- OMS. (14 de Abril de 2017). Obtenido de Estrategias de lucha antivectorial:
http://www.who.int/denguecontrol/control_strategies/es/
- OMS. (14 de Abril de 2017). Obtenido de Gestion Ambiental:
http://www.who.int/denguecontrol/control_strategies/environmental_management/es/
- OMS. (14 de Abril de 2017). Obtenido de Control Biologico:
http://www.who.int/denguecontrol/control_strategies/biological_control/es/
- OMS. (14 de Abril de 2017). Obtenido de Control Quimico:
http://www.who.int/denguecontrol/control_strategies/chemical_control/es/
- OMS, O. (29 de Mayo de 2017). *Organizacion Panamericana de Salud, Organizacion Mundial de la Salud*. Obtenido de <file:///C:/Users/Home/Downloads/2017-cha-dengue-cases-may-29-ew-20.pdf>
- Organizacion Mundial de la Salud*. (14 de Abril de 2017). Obtenido de OMS:
http://www.who.int/topics/tropical_diseases/es/
- Peñaranda Arredondo, A., & Londoño López, M. E. (1 de Junio de 2009). Obtenido de Scielo.org - Revista Ingenieria Biomedica:
<http://www.scielo.org.co/pdf/rinbi/v3n5/v3n5a13.pdf>
- Sáez, V., Hernáez, E., & Sanz Angulo, L. (Julio de 2002). *Universidad del País Vasco*. Obtenido de Sistemas de liberacion controlada de medicamentos: www.ehu.eus/reviberpol/pdf/Jul/Virginia%201.doc
- Salazar, L. I. (2012). *bdigital-Unal*. Obtenido de Determinación de las concentraciones diagnosticas de los reguladores de crecimiento de

insectos piriproxifen y diflubenzuron para *Aedes Aegypti*.:
<http://www.bdigital.unal.edu.co/11597/1/5598553.2013.pdf>

Sánchez, A., Sibaja, M., Vega Baudrit, J., & Madrigal, S. (Mayo de 2017).
Revista Iberoamericana de Polimeros. Obtenido de Hidrogeles de
Quitosano: <http://www.ehu.eus/reviberpol/pdf/SEP07/sanchez.pdf>

Silva Ruiz, J. P. (2016). *ESTUDIO DEL EFECTO Y DURACIÓN DEL
LARVICIDA PIRIPROXIFÉN SOBRE EL DESARROLLO DE LAS
LARVAS DEL MOSQUITO *Aedes aegypti* LIBERADO A PARTIR DE
MATRICES POLIMÉRICAS DE QUITOSANO*. Santiago de Cali:
Universidad Icesi.

T.Stadler. (14 de Abril de 2017). *cricyt*. Obtenido de Insecticidas:
<http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Insecticidas.htm>

Torrades, S. (2001). *Elsevier*. Obtenido de Prevención y tratamiento de las
enfermedades tropicales: [http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-
articulo-prevencion-tratamiento-las-enfermedades-tropicales-13015490](http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-prevencion-tratamiento-las-enfermedades-tropicales-13015490)

Truong, L., & Greg Gonnerman, M. T. (2016). *ScienceDirect*. Obtenido de
Assessment of the developmental and neurotoxicity of the mosquito
control larvicide, pyriproxyfen, using embryonic zebrafish:
<http://nebulosa.icesi.edu.co:2621/science/article/pii/S0269749116309794>

Villarroel, S. B., & Dennis Javier Segales Rojas, L. Z. (3 de Febrero de 2014).
Scielo. Obtenido de
[http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-
29662014000100003](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662014000100003)

VISCOELASTICIDAD. (Julio de 2017). Obtenido de
<https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/3624/1/tema3RUA.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Cálculos para la síntesis de hidrogeles (Silva Ruiz, 2016).

- **Solución de ácido acético glacial al 2% en matraz de 100mL**

$$\frac{2\text{mL ácido acético glacial}}{100\text{mL de solución}} * 100 = \text{solución de ácido acético 2\%}$$

Se aforo con agua destilada.

- **Solución de quitosano al 3%**

$$\frac{3\text{g de quitosano}}{100\text{mL de solución ácido acético 2\%}} * 100 = \text{solución quitosano 3\%}$$

Se preparó en beaker de 400mL con la solución de ácido acético glacial anterior.

- **Solución de glutaraldehído al 0,4% a partir de glutaraldehído al 50%**

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$50\% * V_1 = 0,4\% * 250\text{mL}$$

$$V_1 = \frac{0,4\% * 100\text{mL}}{50\%}$$

$$V_1 = 2\text{mL}$$

Se preparó en un matraz aforado de 250mL usando como solvente agua destilada.

A continuación, se muestran las tablas de los valores hallados que se deben obtener en volumen de la emulsión comercial para obtener las concentraciones de piroproxifen deseadas en los hidrogeles sintetizados. Estas tablas son tomadas del proyecto de Juan Pablo Silva Ruiz, donde se realizaron los cálculos respectivos para obtenerlas (Silva Ruiz, 2016).

Tabla 5. Volúmenes de emulsión de piroproxifen para cargar los hidrogeles según concentración 1X, 5X y 10X.

Concentración	Quitosano (mL)	Emulsión de piroproxifén (µL)
1X		10,0
5X	100,00	50,0
10X		100,0

Tabla 6. Resumen de los volúmenes de quitosano, glutaraldehído y piriproxifen que tiene cada hidrogel (según entrecruzamiento y concentración).

Entrecruzamiento	Concentración piriproxifen (X=0,05ppm)	Quitosano (mL)*	Glutaraldehído (mL)	Piriproxifen (µL)	Volumen total (mL)
25%	1X	60,00	24,64	6,0	84,65
	5X			30,0	84,67
	10X			60,0	84,70
75%	1X	40,00	49,28	4,0	89,29
	5X			20,0	89,30
	10X			40,0	89,32

*Dicho volumen se toma de la solución de quitosano previamente preparada según sea el caso.

Anexo 2. Reporte de curva de calibración de piroproxifen en diclorometano por el cromatógrafo de gases con ECD.

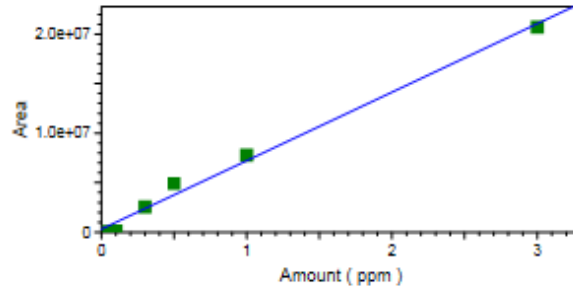
Calibration Report

Method: C:\Enterprise\Projects\Novaluron2\Result\Adminstrador.rslt\uECD piroproxifen3.met
 Print Time: 7/13/2017 3:54:52 PM (GMT -05:00)
 User: admin (Adminstrador)
 Instrument: 7890B_7697A (Offline)

Piroproxifen (Aux Signal)

Average RF: 5.96787e+006 RF StDev: 3.65547e+006 RF %RSD: 61.2525
 Scaling: None LSQ Weighting: None Force Through Zero: Off
 Replicate Mode: Replace
 Fit Type: Linear
 $y = 6.90953e+006x + 323987$
 Goodness of fit (r^2): 0.990432

Peak: Piroproxifen -- ESTD -- Aux Signal



	Level 1	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5
Amount	0.05	0.1	0.3	0.5	1
Area	78487	126618	2531167	4928677	7774530
RF	1569740	1266180	8437223.33333333	9857354	7774530
Last Area			33		
Residual	0.0855307	0.128565	-0.0194401	-0.166426	-0.0783
Rep StDev					
Rep %RSD					
Rep 1 Area	78487	126618	2531167	4928677	7774530

	Level 6
Amount	3
Area	20706603
RF	6902201
Last Area	
Residual	0.0500707
Rep StDev	
Rep %RSD	
Rep 1 Area	20706603

Calibration sample statistics:

Compound: Piroproxifen				Signal:		Aux Signal		
Line#	Location	Inj#	Type	RT [min]	Amount [ppm]	Area	Height	Tail F. Sample Name
1	1	vv		16.612	0.05000	84064	19633	0.00 std 1 piroproxifen
2	1	vv		16.603	0.05000	78487	17142	0.00 std 1 piroproxifen
3	1	vv		16.603	0.10000	329258	29002	0.00 std 2 piroproxifen
4	1	vv		16.608	0.10000	126618	27172	0.00 std 2 piroproxifen
5	1	vv		16.606	0.30000	2473331	637165	0.00 std 3 piroproxifen
6	1	vv		16.603	0.30000	2531167	639217	0.00 std 3 piroproxifen
7	1	vv		16.604	0.50000	4733332	1155790	0.00 std 4 piroproxifen
8	1	vv		16.603	0.50000	4928677	1182688	0.00 std 4 piroproxifen
9	1	vv		16.603	1.00000	7567080	1787839	0.00 std 5 piroproxifen
10	1	vv		16.603	1.00000	7774530	1836588	0.00 std 5 piroproxifen
11	1	vv		16.602	3.00000	20958750	4578279	0.00 std 7 piroproxifen
12	1	vv		16.600	3.00000	20706603	4425929	0.00 std 7 piroproxifen
		Average		16.604	0.82500	6024325	1361370	0.00
		Standard		0.00298	1.06760	7444246.66	1607663.39	0.00
		RSD		0.018	129.40623	123.570	118.092	NaN

Figura 12. Datos de la curva de calibración por duplicado en el cromatógrafo de gases.

Anexo 3. Formato de identificación para lectura en cromatógrafo de gases de cada una de las muestras.

Tabla 7. Etiqueta con la que se marcaron los viales de cromatografía de las muestras de 10X (25%-75% entrecruzamiento) y 5X (25%-75% entrecruzamiento).

15-1	17-1	18-1	20-1	21-1	23-1	24-1
15-2	17-2	18-2	20-2	21-2	23-2	24-2
15-3	17-3	18-3	20-3	21-3	23-3	24-3
15-4	17-4	18-4	20-4	21-4	23-4	24-4
15-5	17-5	18-5	20-5	21-5	23-5	24-5
15-6	17-6	18-6	20-6	21-6	23-6	24-6
15-7	17-7	18-7	20-7	21-7	23-7	24-7
15-8	17-8	18-8	20-8	21-8	23-8	24-8
15-9	17-9	18-9	20-9	21-9	23-9	24-9
15-10	17-10	18-10	20-10	21-10	23-10	24-10
15-11	17-11	18-11	20-11	21-11	23-11	24-11
15-12	17-12	18-12	20-12	21-12	23-12	24-12

Donde los números antes del guion (-) representan la concentración del pirirpoxifen y el entrecruzamiento (**15**=5X-25%; **17**=5X-75%; **18**=5X-75%; **20**=10X-25%; **21**=10X-25%; **23**=10X-75% y **24**=10X-75%) y los números después del guion representan el tiempo de los días en que se tomó la alicuota (**1**=10-Marzo-2017; **2**=15-Marzo-2017; **3**=17-Marzo-2017; **4**=22-Marzo-2017; **5**=Marzo-2017; **6**=29-Marzo-2017; **7**=31-Marzo-2017; **8**=7-Abril-2017; **9**=11-Abril-2017; **10**=19-Abril-2017; **11**=3-Mayo-2017; **12**=10-Mayo-2017).

Anexo 4. Reporte de datos de las muestras de 10X (25% - 75% de entrecruzamiento) y 5X (75% entrecruzamiento) por el CG-ECD. Replica 1 del montaje.

Sequence Summary Report (Short)



Calibration sample statistics:

Compound: Piroproxifen				Signal:		Aux Signal		
Line#	Location	Inj#	Type	RT [min]	Amount [ppm]	Area	Height	Tail F. Sample Name
1	1	vv		16.612	0.05000	84064	19633	0.00 std 1 piroproxifen
2	1	vv		16.603	0.05000	78487	17142	0.00 std 1 piroproxifen
3	1	vv		16.603	0.10000	329258	29002	0.00 std 2 piroproxifen
4	1	vv		16.608	0.10000	126618	27172	0.00 std 2 piroproxifen
5	1	vv		16.606	0.30000	2473331	637165	0.00 std 3 piroproxifen
6	1	vv		16.603	0.30000	2531167	639217	0.00 std 3 piroproxifen
7	1	vv		16.604	0.50000	4733332	1155790	0.00 std 4 piroproxifen
8	1	vv		16.603	0.50000	4928677	1182688	0.00 std 4 piroproxifen
9	1	vv		16.603	1.00000	7567080	1787839	0.00 std 5 piroproxifen
10	1	vv		16.603	1.00000	7774530	1836588	0.00 std 5 piroproxifen
11	1	vv		16.602	3.00000	20958750	4578279	0.00 std 7 piroproxifen
12	1	vv		16.600	3.00000	20706603	4425929	0.00 std 7 piroproxifen
		Average		16.604	0.82500	6024325	1361370	0.00
		Standard		0.00298	1.06760	7444246.66	1607663.39	0.00
		RSD		0.018	129.40623	123.570	118.092	NaN

Sample statistics:

Compound: Piriproxifen			Signal:		Aux Signal		Tail F.	Sample Name	
Line#	Inj#	Type	RT [min]	Amount [ppm]	Area	Height			
25	1	vv	16.598	0.47274	3566889.000	925341.000	0.00	21-1piro	
26	1	vv	16.599	0.75732	5552203.000	1374230.000	0.00	21-2piro	
27	1	vv	16.598	0.88305	6429347.000	1490334.000	0.00	21-3piro	
28	1	vv	16.595	0.97332	7059102.000	1676895.000	0.00	21-4piro	
29	1	vv	16.597	0.90094	6554134.000	1578618.000	0.00	21-5piro	
30	1	vv	16.598	0.78684	5758129.000	1396235.000	0.00	21-6piro	
31	1	vv	16.598	0.90428	6577433.000	1628056.000	0.00	21-7piro	
32	1	vv	16.598	1.09823	7930460.000	1896867.000	0.00	21-8piro	
33	1	vv	16.598	1.21976	8778284.000	2084993.000	0.00	21-9piro	
34	1	vv	16.597	1.30671	9384915.000	2190011.000	0.00	21-10piro	
35	1	vv	16.594	1.30197	9351821.000	2234154.000	0.00	21-11piro	
36	1	vv	16.595	1.49377	10689905.0000	2536576.000	0.00	21-12piro	
13	1	vv	16.594	0.06882	749012.000	191157.000	0.00	18-1piro	
14	1	vv	16.596	0.00000	193179.000	50688.0000	0	0.00	18-2piro
15	1	vv	16.594	0.01852	398148.000	107693.000	00	0.00	18-3piro
16	1	vv	16.592	0.12814	1162856.000	312729.000	00	0.00	18-4piro
17	1	vv	16.598	0.03357	503079.000	132244.000	00	0.00	18-5piro
18	1	vv	16.591	0.13049	1179239.000	327690.000	00	0.00	18-6piro
19	1	vv	16.591	0.00938	334370.000	83012.0000	0	0.00	18-7piro
20	1	vv	16.590	0.00855	328556.000	90379.0000	00	0.00	18-8piro
21	1	vv	16.591	0.03326	500919.000	137329.000	00	0.00	18-9piro
22	1	vv	16.584	0.00000	209941.000	54966.0000	0	0.00	18-10piro
23	1	vv	16.578	0.00000	230702.000	51854.0000	0	0.00	18-11piro
24	1	vv	16.588	0.00000	174795.000	45299.0000	0	0.00	18-12piro

Line#	Inj#	Type	RT [min]	Amount [ppm]	Area	Height	Tail F.	Sample Name
37	1	vv	16.588	0.03685	525988.000	136465.000	0.00	24-1piro
					00	00		
38	1	vv	16.590	0.06049	690905.000	179983.000	0.00	24-2piro
					00	00		
39	1	vv	16.592	0.19861	1654509.000	438254.000	0.00	24-3piro
					000	00		
40	1	vv	16.593	0.13960	1242802.000	338216.000	0.00	24-4piro
					000	00		
41	1	vv	16.591	0.20211	1678918.000	457352.000	0.00	24-5piro
					000	00		
42	1	vv	16.592	0.27311	2174221.000	528091.000	0.00	24-6piro
					000	00		
43	1	vv	16.590	0.41670	3175929.000	816017.000	0.00	24-7piro
					000	00		
44	1	vv	16.589	0.42742	3250691.000	837990.000	0.00	24-8piro
					000	00		
45	1	vv	16.592	0.51600	3868701.000	972679.000	0.00	24-9piro
					000	00		
46	1	vv	16.592	0.62299	4615082.000	1173436.000	0.00	24-10piro
					000	000		
47	1	vv	16.594	0.61119	4532747.000	1145639.000	0.00	24-11piro
					000	000		
		Average	16.593	0.45814	3457368.88	846327.485	0.00	
		Standard	0.00439	0.46524	3253412.61	769487.975	0.00	
		RSD	0.026	101.54967	94.10082	90.92083	NaN	

Anexo 5. Reporte de datos de las muestras de 10X (25% - 75% de entrecruzamiento) y 5X (25% - 75% entrecruzamiento) por el CG-ECD. Replica 2 del montaje.

Sample statistics:

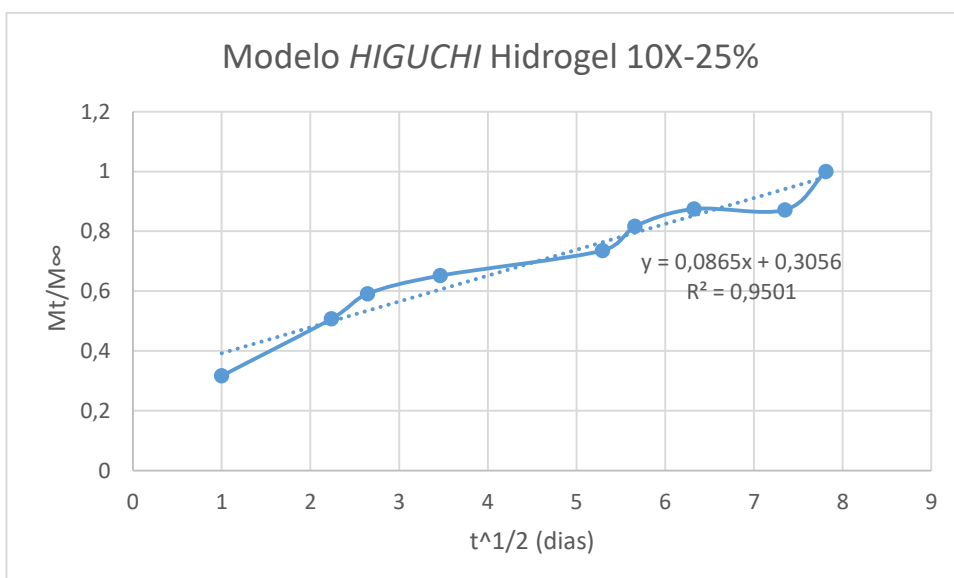
Compound: Piriproxifen			Signal:		Aux Signal		Tail F.	Sample Name
Line#	Inj#	Type	RT [min]	Amount [ppm]	Area	Height		
31	1	wv	16.597	0.10336	989985.000	192758.000	0.00	15-1 PIRI
32	1	wv	16.596	0.08078	832448.000	220809.000	0.00	15-2 PIRI
33	1	wv	16.595	0.00000	183998.000	45562.0000	0.00	15-3 PIRI
34	1	wv	16.594	0.00000	231704.000	65693.0000	0.00	15-4 PIRI
35	1	wv	16.593	0.00000	247959.000	61426.0000	0.00	15-5 PIRI
36	1	wv	16.597	0.00000	49865.0000	14317.0000	0.00	15-6 PIRI
37	1	wv	16.588	0.00000	227164.000	10771.0000	0.00	15-7 PIRI
38	1	wv	16.586	0.00000	71991.0000	12989.0000	0.00	15-8 PIRI
39	1	wv	16.567	0.00000	155657.000	12067.0000	0.00	15-9 PIRI
40	1	wv	16.591	0.00000	128675.000	12564.0000	0.00	15-10 PIRI
41	1	wv	16.579	0.00000	111873.000	10876.0000	0.00	15-11 PIRI
42	1	wv	16.579	0.00000	121090.000	13473.0000	0.00	15-12 PIRI
43	1	wv	16.602	0.06088	693661.000	182214.000	0.00	20_1 PIRI
44	1	wv	16.591	0.00170	280805.000	56247.0000	0.00	20_2 PIRI
45	1	wv	16.598	0.00000	159920.000	37790.0000	0.00	20_3 PIRI
46	1	wv	16.595	0.00000	225607.000	59167.0000	0.00	20_4 PIRI
47	1	wv	16.598	0.00164	280343.000	67034.0000	0.00	20_5 PIRI
48	1	wv	16.602	0.00000	48372.0000	12036.0000	0.00	20_6 PIRI
49	1	wv	16.603	0.00000	161332.000	13138.0000	0.00	20_7 PIRI
50	1	wv	16.579	0.00000	190220.000	14396.0000	0.00	20_8 PIRI
51	1	wv	16.598	0.00000	88701.0000	15206.0000	0.00	20_9 PIRI
52	1	wv	16.592	0.00000	205773.000	13474.0000	0.00	20_11 PIRI
53	1	wv	16.590	0.00000	64856.0000	12309.0000	0.00	20_12 PIRI
19	1	wv	16.592	0.07649	802505.000	210153.000	0.00	17_1 PIRI

Line#	Inj#	Type	RT [min]	Amount [ppm]	Area	Height	Tail F.	Sample Name
20	1	w	16.593	0.00000	219302.0000	52456.00000	0.00	17_2 PIRI
21	1	w	16.591	0.00043	271915.0000	48634.00000	0.00	17_3 PIRI
22	1	w	16.590	0.00000	142422.0000	33307.00000	0.00	17_4 PIRI
23	1	w	16.595	0.00000	252226.0000	66281.00000	0.00	17_5 PIRI
24	1	w	16.588	0.00000	57449.00000	14523.00000	0.00	17_6 PIRI
25	1	w	16.592	0.00000	46084.00000	13576.00000	0.00	17_7 PIRI
26	1	w	16.588	0.00000	71183.00000	12085.00000	0.00	17_8 PIRI
27	1	w	16.589	0.00000	83157.00000	13742.00000	0.00	17_9 PIRI
28	1	w	16.591	0.00000	231141.0000	14242.00000	0.00	17_10 PIRI
29	1	w	16.590	0.00000	78720.00000	12838.00000	0.00	17_11 PIRI
30	1	w	16.593	0.00000	88372.00000	14624.00000	0.00	17_12 PIRI
7	1	w	16.591	0.10445	997582.0000	263393.00000	0.00	23_1 PIRI
8	1	w	16.585	0.06581	728014.0000	196893.00000	0.00	23_2 PIRI
9	1	w	16.589	0.00000	259189.0000	58228.00000	0.00	23_3 PIRI
10	1	w	16.586	0.00000	179242.0000	46600.00000	0.00	23_4 PIRI
11	1	w	16.592	0.00000	244113.0000	66315.00000	0.00	23_5 PIRI
12	1	w	16.588	0.00000	53952.00000	14602.00000	0.00	23_6 PIRI
13	1	w	16.589	0.00000	43724.00000	13176.00000	0.00	23_7 PIRI
14	1	w	16.591	0.00000	232275.0000	14546.00000	0.00	23_8 PIRI
15	1	w	16.583	0.00000	84993.00000	14112.00000	0.00	23_9 PIRI
16	1	w	16.586	0.00316	290975.0000	13747.00000	0.00	23_10 PIRI
17	1	w	16.582	0.00000	80275.00000	13167.00000	0.00	23_11 PIRI
18	1	w	16.589	0.00000	55880.00000	13859.00000	0.00	23_12 PIRI
		Average	16.590	0.01061	241418.914	50881.1702	0.00	
		Standard	0.00649	0.02826	247734.847	65594.0562	0.00	
		RSD	0.039	266.31313	102.61617	128.91617	NaN	

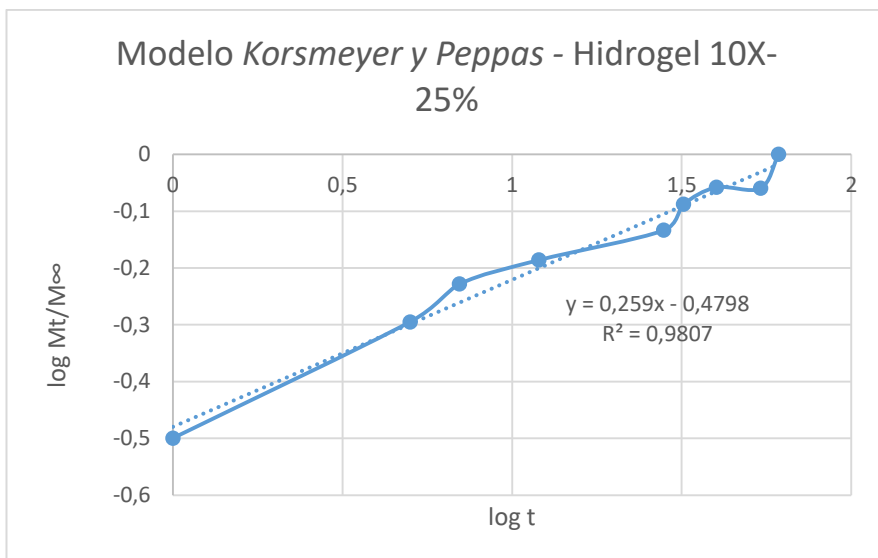
Anexo 6. Variables trabajadas para el ajuste de los modelos matemáticos a la liberación del piriproxifen.

Tabla 8. Variables para ajuste a los diferente modelos matemáticos para el hidrogel 10X-25%

ppm	ppm final	t (dias)	t ^{1/2}	Mt/M [∞] 10X-25%	logt	logMt/M [∞]
0,47274	1,49377	1	1	0,316474424	0	-0,49966138
0,75732		5	2,23606798	0,506985681	0,69897	-0,29500431
0,88305		7	2,64575131	0,591155265	0,84509804	-0,22829844
0,97332		12	3,46410162	0,651586255	1,07918125	-0,18602809
1,09823		28	5,29150262	0,735206893	1,44715803	-0,13359043
1,21976		32	5,65685425	0,816564799	1,50514998	-0,08800935
1,30671		40	6,32455532	0,874773225	1,60205999	-0,05810452
1,30197		54	7,34846923	0,871600046	1,73239376	-0,05968276
1,49377		61	7,81024968	1	1,78532984	0



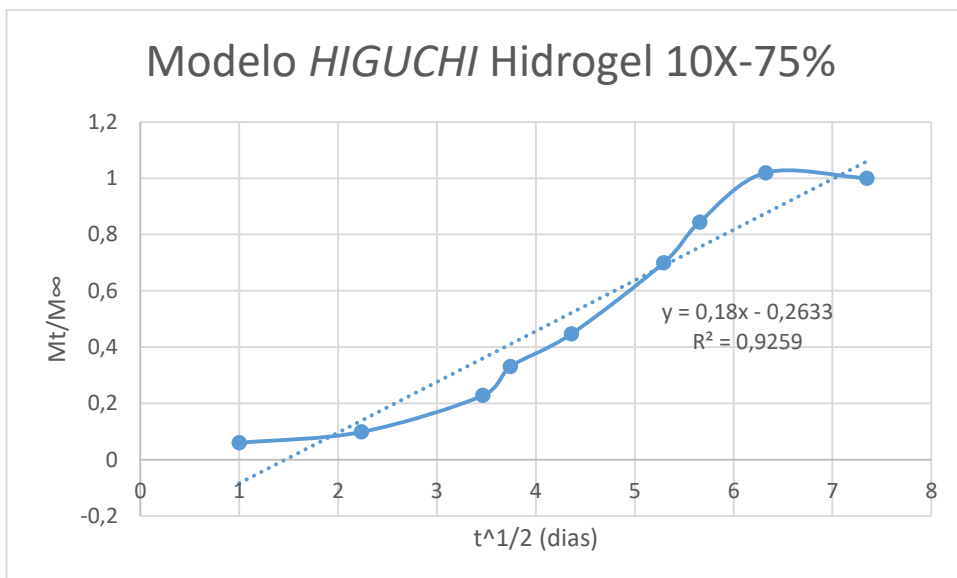
Grafica 9. Ajuste de la liberación del piriproxifen en el hidrogel de 10X-25% al modelo de *HIGUCHI*.



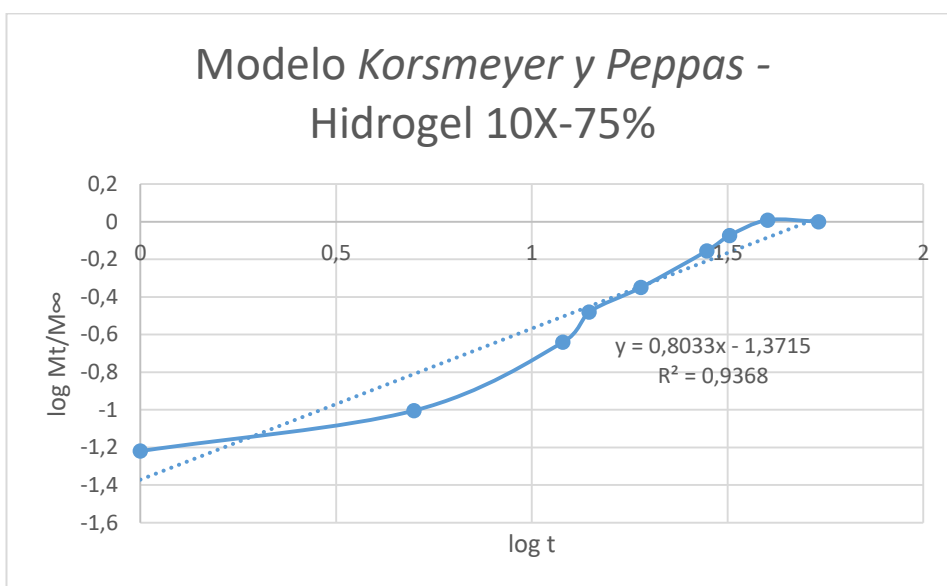
Grafica 10. Ajuste de la liberación del piroxicfen en el hidrogel de 10X-25% al modelo de *korsmeyer y Peppas*.

Tabla 9. Variables para ajuste a los diferente modelos matemáticos para el hidrogel 10X-75%

ppm	ppm final	t (dias)	t ^{1/2}	Mt/M [∞] 10X-75%	logt	logMt/M [∞]
0,03685	0,61119	1	1	0,060292217	0	-1,21973875
0,06049		5	2,23606798	0,09897086	0,69897	-1,00449266
0,1396		12	3,46410162	0,228406878	1,07918125	-0,64129082
0,20211		14	3,74165739	0,330682766	1,14612804	-0,48058844
0,27311		19	4,35889894	0,446849589	1,2787536	-0,34983864
0,42742		28	5,29150262	0,699324269	1,44715803	-0,1553214
0,516		32	5,65685425	0,844254651	1,50514998	-0,07352654
0,62299		40	6,32455532	1,019306599	1,60205999	0,00830484
0,61119		54	7,34846923	1	1,73239376	0



Grafica 11. Ajuste de la liberación del piriproxifen en el hidrogel de 10X-75% al modelo de *HIGUCHI*.



Grafica 12. Ajuste de la liberación del piriproxifen en el hidrogel de 10X-75% al modelo de *korsmeyer y Peppas*.