Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN DE AREQUIPA

FACULTAD DE INGENIERIA DE PROCESOS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA MATERIALES

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO REOLOGICO DE SOLUCIONES DE QUITOSANO CON TPP (TRIPOLIFOSFATO DE SODIO)

TESIS PRESENTADA POR :
ROLDAN/RODRIGUEZ, JOSE LUIS
CANAHUA/SOSA, LESLIE ANNJEANET

PARA OPTAR EL TITULO DE :
INGENIERO DE MATERIALES

AREQUIPA – PERÚ
2015

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

CAPITULO I

GENERALIDADES

I. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.1 Formulación del problema

En la actualidad en los laboratorios de Ingeniería de Materiales no es posible caracterizar el comportamiento reológico de fluidos complejos, por lo que la adquisición y utilización de un Viscosímetro Rotacional permitiría estudiar y caracterizar fluidos complejos en las regiones Newtonianas y no-Newtonianas.

El presente trabajo de investigación pretende determinar el comportamiento reológico de soluciones a diferentes concentraciones de quitosano, y a diferentes concentraciones de TPP, para lo cual utilizaremos para diferenciar el comportamiento reológico el Viscosímetro Rotacional One Series Fungilab.

1.2 Justificación e importancia de la investigación

El estudio de soluciones de quitosano con TPP permitirá la formación de Hidrogeles de quitosano de estructura reticulada (cross-linked) cuyo comportamiento es de mucho interés en el transporte de fármacos en el interior del cuerpo humano en la actualidad.

Además la realización del presente trabajo de investigación contribuirá con la implementación del Laboratorio de Polímeros de la Escuela de

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

Ingeniería de Materiales, pues la adquisición de este Viscosímetro Rotacional permitirá la medición de fluidos complejos en el rango de 200 a 13 000 000 de Centipoises.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo General

Estudiar el comportamiento reológico de soluciones de quitosano con TPP.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar el quitosano determinando su peso molecular viscoso y el grado de acetilación respectivo mediante valoración potenciométrica.
- Determinar el efecto de la concentración de quitosano sobre la viscosidad de las soluciones obtenidas.
- Determinar el efecto de la adición de TPP sobre la viscosidad de las soluciones obtenidas.
- Determinar el comportamiento reológico de las soluciones CS + TPP estudiadas.

1.4 HIPÓTESIS

Demostrar que el comportamiento reológico de las soluciones de quitosano varía con la concentración tripolifosfato de sodio y la concentración de quitosano.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

1.5 VARIABLES

1.5.1 Identificación de las Variables

Las variables que se considerarán en el presente trabajo de investigación son las siguientes:

- Concentración de Quitosano
- Concentración del Tripolifosfato de Sodio
- Viscosidad de las soluciones.

1.5.2 Caracterización de las variables

a) Variables Dependiente

- Viscosidad de soluciones de CS+TPP.

b) Variables Independientes

- Concentración del Quitosano
- Concentración del tripolifosfato de sodio

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

CAPITULO II

FUNDAMENTO TEORICO

2.1 GENERALIDADES

Debido a la importancia de la reología en varios campos y productos de quitosano, esta breve revisión intenta describir los estudios recientes sobre la reología de las soluciones de quitosano y variar sus mezclas con un agente entrecruzante. Se prevé que la reología será una herramienta indispensable para la investigación de quitosano en el futuro.

Las propiedades reológicas de las soluciones concentradas son poco investigadas hasta la fecha, a pesar de algunos informes han sido publicados por las propiedades de la solución diluida de quitosano

El quitosano (CS) ha sido considerado como uno de los materiales de elección para la preparación de nanopartículas (NPs) en diversas aplicaciones debido a sus propiedades biodegradables y no tóxicas. NPs de quitosano (CNP) se forman de manera espontánea en la incorporación de polianión tal como tripolifosfato (TPP) en solución CS en condiciones de agitación continua. Estas NPs entonces se recojen y se utilizan para aplicaciones de terapia génica y de liberación de drogas.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

En la última década, varias investigaciones se han centrado en las nanopartículas y su papel como vehículos de administración de fármacos. Las nanopartículas se introdujeron por primera vez en la década de 1970 por Birrenbach y Speiser (1976). Las nanopartículas poliméricas poseen propiedades únicas por sí mismos y, además, tiene la ventaja de proteger los fármacos de proteínas y péptidos contra la degradación química y enzimática en el tracto intestinal, lo que aumenta su estabilidad y la absorción a través del epitelio intestinal, así como el control de la liberación del fármacos [(1)]. Las nanopartículas de quitosano con excelentes propiedades biodegradables y biocompatibles se han utilizado ampliamente como vehículos de administración de fármacos.

Estas aplicaciones se ven facilitadas por el efecto potenciador de la absorción del quitosano. Además, las nanopartículas de quitosano se han propuesto como vectores no virales en la terapia génica y han mostrado efecto adyuvante en vacunas. Las nanopartículas se pueden preparar por diferentes técnicas, tales como polimerización, nanoprecipitación, y microemulsión inversa; sin embargo, la mayoría de estos métodos implican el uso de disolventes orgánicos, el calor y agitación vigorosa que tal vez son perjudiciales para los fármacos de proteínas y péptidos [(2)].

En 1997 se describió la preparación de nanopartículas de quitosano por gelificación ionotrópica con tripolifosfato sódico (TPP),

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

obteniendo nanopartículas biodegradables y biocompatibles preparadas por un proceso más suave, sin altas temperaturas ni solventes orgánicos.

Los medicamentos de proteínas o péptidos se disolvieron ya sea en el TPP o quitosano con interacción iónica del TPP (negativo) con el grupo amina del quitosano (positiva) dado lugar a una nanosuspensión que contiene el fármaco [3]. Mao et al. utilizaron la técnica de formación de complejos de polielectrolito (PEC) para unirse directamente con la carga positiva del quitosano con la cargados negativa de la proteína o péptido a través de las interacciones electrostáticas [3]. El tamaño de partícula y carga superficial son factores críticos en la absorción de nanopartículas y su liberacion. Los estudios han demostrado que las partículas con un tamaño de 100 nm se recogieron 6 veces más que las partículas con 100 µm por células de absorción [5]. Nanopartículas cargadas positivamente son más propensos a ser absorbidos por las células del tracto Intestinal. Esto es debido a la interacción de las partículas cargadas positivamente con la carga negativa del revestimiento mucoso del tracto Intestinal.

Aunque las nanopartículas de quitosano se han estudiado ampliamente como vehículos de fármacos para la administración en diferentes rutas, todavía se necesita más investigación para determinar su seguridad, eficacia como agentes terapéuticos y la liberación del fármaco.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

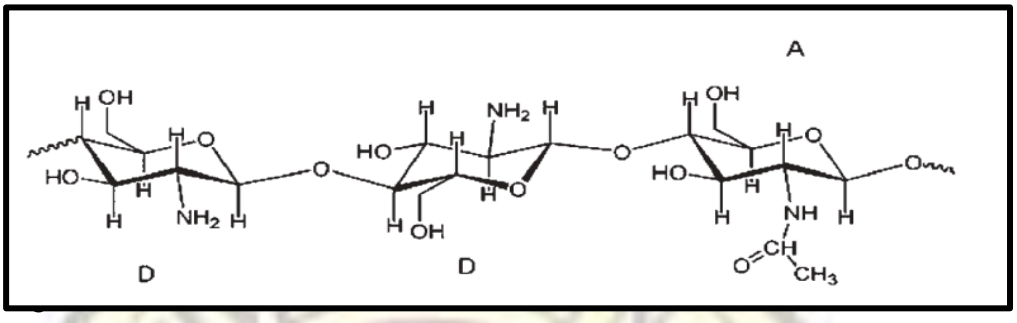
2.2 CARACTERÍSTICAS DEL QUITOSANO

El quitosano define a una familia de heteropolisacaridos lineales que están formados por 2-amino-2-deoxi-β-D-glucosa (unidades D) y 2-acetamido-2-deoxi- β-D-glucosa (unidades A) unidas en (1→4) (Figura 1), La quitina se encuentra ampliamente en crustáceos conchas, hongos, insectos, anélidos, moluscos, celentéreos, etc. El quitosano se produce comercialmente a partir de la quitina, el componente principal es de conchas de crustáceos, mayormente a partir de residuos de procesamiento de camarones. El quitosano se ha cargado positivamente con grupos iónicos que funcionan de forma única entre todos los polisacáridos disponibles en la actualidad y por lo tanto tiene un gran potencial para una variedad de aplicaciones.

El quitosano y quitina pueden ser sometidos a una amplia gama de modificaciones químicas y físicas para generar propiedades únicas y ampliar las aplicaciones.

El quitosano es generado por la desacetilación alcalina de la quitina. El grado de desacetilación controla la solubilidad y es una categoría útil para la clasificación de quitosano.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa



am A. Rheological study of chitosan and its blends. *Maejo Int. J. Sci. Technol.* **2010**, *4*(02), 210-220

FIGURA 2.1. Estructura esquemática de la representación de una cadena de quitosano.

2.3 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL QUITOSANO

2.3.1 PESO MOLECULAR

Los pesos moleculares relativos de la quitina y el quitosano se pueden medir por cromatografía de permeación en gel [2], el método de presión osmótica de vapor, osmometría de membrana, el método de grupo terminal [3], medición de la viscosidad, el método de light scattering (dispersión de la luz), y acoplamiento de light scattering con cromatografía de permeación en gel. La cromatografía de permeación en gel se aplica para medir el peso molecular relativo medio en peso y el peso molecular relativo medio en número. El método de light scattering se aplica para medir el peso molecular relativo medio ponderado. La medición de la viscosidad se aplica para medir el peso molecular relativo medio en viscosidad.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

La mayor ventaja de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en la medición relativa de peso molecular es que puede medir absolutamente el peso molecular relativo y determinar la distribución relativa de peso molecular. Se han desarrollado muestras especiales del instrumento y de orientación de los pesos moleculares relativos; Por lo tanto, HPLC es ahora un método común para medir el peso molecular relativo y distribución relativa de peso molecular. El método de light scattering es otro método común, especialmente el método de acoplamiento de light scattering con cromatografía de permeación en gel utilizado para absolutamente medir el peso molecular relativo. El método de grupo terminal no necesita un dispositivo especial y es fácil de operar; por lo tanto, se utiliza ampliamente. Sin embargo, el error en el método de grupo terminal es algo grande.

El peso molecular viscoso puede medirse por muchos métodos con diferente significado físico. La viscosidad inherente puede ser medida por un viscosímetro Ubbelohde, que es el método más común para medir la viscosidad del quitosano. Viscosidad inherente es la viscosidad aparente cuando la concentración de polímero de alta es infinitamente baja.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

2.3.2 GRADO DE DESACETILACION (DD)

Conocer el contenido de amino libre en las cadenas de quitosano, es un índice técnico de gran importancia. El DD del quitosano se relaciona directamente a la solubilidad en ácido diluido, la viscosidad, la capacidad de intercambio de iones, floculación, la capacidad de reacción con amino, y otros aspectos.

El DD puede ser definido como la proporción de residuos sin acetilos a todos los residuos de quitosano. Muy pocos métodos se pueden utilizar para medir el DD, tales como alcalimetría (valoración ácido-base [4], la titulación electrolítica [5], titulación bromhidrato [6], espectroscopia infrarroja [8-9], refracción índice [10], la titulación de coloides [11-12], análisis térmico [13], cromatografía de gases [14], el análisis final ([14], ultravioleta (UV) espectrometría [13], y trinitrofenol espectrofotometría [7]. El método más común es la valoración ácido-base, seguido por espectroscopia de infrarrojos y la titulación electrolítica.

Valoración ácido-base es el método más simple con buena repetitividad para medir el contenido de amino libre en quitosano, y no requiere instrumentos especiales. Este método es particularmente adecuado para el control de peso durante la producción. El mecanismo es que el amino libre de álcali en el

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

quitosano puede estar protonado mediante la cuantificación de ácido para formar una solución coloide quitosano, a continuación, los iones de hidrógeno disociativos se pueden valorar mediante un álcali, y el ácido se combina con amino libre puede ser resuelto por la diferencia de ácido para la disolución de quitosano y el álcali para titular.

Precauciones en valoración ácido-base son los siguientes:

- Para evitar el error causado por la degradación del ácido clorhídrico de la cadena principal del quitosano, la muestra debe ser disuelta a temperatura ambiente y no a alta temperatura.
- Cuanto mayor sea el DD, mayor sera la solubilidad de la muestra, y viceversa. De ahí que algunas muestras necesitan ser tratados durante la noche.
- La desacetilación es desigual, por lo general resulta en la disolución incompleta. Si los datos de tres mediciones son muy diferentes, la muestra se debe medir de nuevo.
- La muestra debe ser neutral, o el resultado puede ser incorrecto. La muestra que no es neutral se debe ser lavada a neutral y los datos deben ser corregidos.
- La influencia de oxígeno en la atmósfera puede ser ignorada, y por lo tanto la protección de nitrógeno no es necesario.
- El color de la solución coloidal con una gran viscosidad cambia lentamente cuando el punto final de titulación está

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

cerca, y por lo tanto el operador debe prestar atención a la tasa de titulación.

El DD se puede medir por el pico de absorción de los grupos característicos en el espectro infrarrojo del quitosano [16]. En este método, no es necesario disolver el quitosano por disolvente o solución, lo que significa que el espectro infrarrojo se puede obtener directamente mediante el uso de polvo seco. Mediante el uso de una serie de muestras con los DDs conocidos, una curva estándar puede ser trazada utilizando la relación pico de absorción de las bandas especiales, tales como amida I o amida II a una determinada banda. El DD de la muestra ensayada se puede determinar mediante el uso de la curva. En comparación con valoración ácido-base, el error es mayor en este método. Pero el espectro infrarrojo es más conveniente y muestras utilizadas en el método puede ser reciclado. Sequedad es significativo a la repetibilidad de los datos experimentales. Generalmente, el pico de amida I apenas se ve afectado por el agua mientras que el pico de amida II no lo es; por lo tanto, la muestra debe ser secada cuidadosamente. Además, la muestra debe ser molido en polvo muy fino, o el pico de absorción no será lo suficientemente fuerte, por lo que la determinación de la altura del pico incorrecto.

Titulación electrolítico tiene el mismo mecanismo que la titulación ácido-base, pero es diferente del método de

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

determinación de punto final, lo que significa que la valoración electrolítica utiliza una curva de potencial, al tiempo valoración ácido-base utiliza un único indicador o de la mezcla indicador [17].

2.4 APLICACIONES DEL QUITOSANO

2.4.1 LAS MICROESFERAS DE QUITOSANO

Microesferas de quitosano se prepararon mediante la formación de complejos entre el quitosano catiónico y los compuestos polianiónicos, tales como tripolifosfato (TPP) o alginatos. Las microesferas se cargaron con diferentes fármacos para protegerlos del ambiente hostil del tracto intestinal, mejorar la absorción del fármaco a través de la ruta paracelular, y la liberación del fármaco en un sitio específico. La calcitonina polipéptido se utiliza para el tratamiento de la osteoporosis y la enfermedad de Paget en los animales. Estas enfermedades requieren tratamiento a largo plazo; por lo tanto, un sistema de liberación controlada es deseable para la administración del fármaco. Bolas de quitosano que contienen calcitonina de salmón se prepararon utilizando la técnica de la gelificación de iones con TPP para proteger el medicamento de la degradación digestiva y para proporcionar un perfil de liberación sostenida. Los resultados sugieren que un fármaco hidrófobo se puede incorporar en bolas de quitosano y la liberación del fármaco desde las perlas sigue una liberación non-

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

Fickian que corresponde a un sistema de hinchazón controlada. En un estudio realizado por Avadi et al. microesferas de quitosano se prepararon mediante la formación de complejos entre el quitosano y TPP y cargado con Azul Brillante como fármaco modelo para investigar la liberación de moléculas hidrófilas desde las microesferas. En sus estudios, han demostrado que Eudragit S recubrio cápsulas que contienen bolas de quitosano azul cargados brillantes eran adecuados para la administración de fármacos. Lueßen et al. y Kotzé et al. Usaron microesferas de quitosano que contienen diferentes fármacos en células Caco-2 monocapa celular y mostraron un aumento en el transporte de buserelina, insulina, y el derivado de la vasopresina a través de las células. Mutara et al. y Shu et al. han demostrado en sus estudios que variables tales como el tipo y concentración de quitosano, pH de la solución de TPP, concentración del fármaco, el tiempo de gelificación, y condiciones de secado pueden todos determinar el destino de la liberación del fármaco a partir de microesferas de quitosano [19].

2.4.2 Transferencia de ARN mediante Quitosano

El quitosano también puede entregar ARN mediante el aumento de su captación celular y la prevención de la degradación del ARN desnudo. Modificaciones del vector de quitosano se llevaron a cabo para mejorar la transferencia de ARN. Alpar et al. fueron algunos de los primeros grupos que modificaron quitosano a

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

través de la gelificación iónica de las sales de quitosano con TPP para producir nanopartículas. Estas nanopartículas eran más eficientes en la transferencia de ARN si en comparación con el quitosáno no modificado principalmente a causa de capacidad de unión más eficiente y capacidad de carga de ARN [19].

2.4.3 Liberación Controlada de Drogas

Como se demostró (micropartículas thiomer) y nanopartículas fueron exhibidas con las mismas características que los polímeros tiolados, están pueden ser herramientas útiles para el suministro de diversos tipos de drogas desafiantes. Los sistemas de suministro de micropartículas y de nanopartículas se pueden generar a través de diferentes técnicas, tales como en la gelificación in situ y posterior reticulación covalente, polimerización en emulsión radical, emulsificación / evaporación del disolvente, o molienda por chorro de aire.

Las micropartículas a base de quitosano se desintegran muy rápidamente, a menos que se combinan con compuestos multivalentes aniónicos, tales como tripolifosfato (TPP), sulfato de sodio, o alginato que conducen a la estabilización por un proceso de reticulación iónica. La adición de dichos compuestos aniónicos multivalentes, sin embargo, disminuye las propiedades mucoadhesivas de quitosano. En contraste, las micropartículas a

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

base de quitosano tiolado no se desintegran debido a la formación de enlaces disulfuro dentro de la red polimérica.

2.4.4 Nanoparticulas de quitosano

Los nanotransportadores de CS han atraído mucha atención debido a sus propiedades únicas, tales como biocompatibilidad aceptable, biodegradabilidad, y llevando carga positiva. CS es un polisacárido catiónico que es capaz de convertir al gel o estructura de partículas como cuando entra en contacto con polianiones multivalentes, tales como tripolifosfato de sodio (TPP). CS nanopartículas se forman espontáneamente en la mezcla de la solución de CS y TPP, a través de la formación de enlace inter e intramolecular entre el grupo fosfato de TPP y los grupos amino de CS. Usando esta técnica, ha sido posible asociar de manera eficiente compuestos hidrófilos, tales como pequeñas moléculas, péptidos y proteínas, y los genes se pueden cargar fácilmente con este sistema de partículas. El establecimiento de interacciones electrostáticas, ya sea con el EC con carga positiva o negativa con polianión TPP es el mecanismo principal detrás de la trampa de las drogas. Por otra parte, las moléculas hidrófobas también se pueden encapsular con partículas de CS con algunas modificaciones en la técnica de preparación de nanopartículas. Atrapamiento de la ciclosporina polipéptido hidrófobo (CyA) se logró mediante una disolución previa del péptido en una mezcla acetonitrilo: agua, y

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

una precipitación adicional en nanopartículas. Evaluación in vivo de estas nanopartículas en conejos evidenciaron que estas nanopartículas proporcionan una entrega selectiva y prolongada de CyA a la córnea y la conjuntiva. El uso de un enfoque tecnológico muy similar, otros autores también reportaron el éxito en el desarrollo de moléculas lipófilas nanopartículas cargadas CS. La indometacina atrapamiento en nanopartículas CS se logró mediante la disolución anterior en diclorometano (DCM) y una nanoprecipitation más a fondo en las nanopartículas CS. Otra estrategia para la carga de fármacos lipófilos dentro de nanopartículas CS ha implicado la modificación química de la CS con residuos hidrófobos. Por ejemplo, glicol cuaternario de amonio palmitoil CS agregada en una estructura micelar jerárquicamente organizado para permitir el atrapamiento de compuestos hidrofóbicos, tales como la prednisolona. En la administración ocular tópica, se encontró que estas nuevas nanoestructuras tienen una capacidad para superar las barreras oculares.

2.5 REOLOGIA

El término 'Reología' * fue inventado por el profesor Bingham de Lafayette College, Easton, Pensilvania. Significa el estudio de la deformación y el flujo de la materia. Esta definición fue aceptada cuando la Sociedad Americana de reología fue fundada en 1929. En esa primera reunión se escucharon ponencias sobre las propiedades y

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

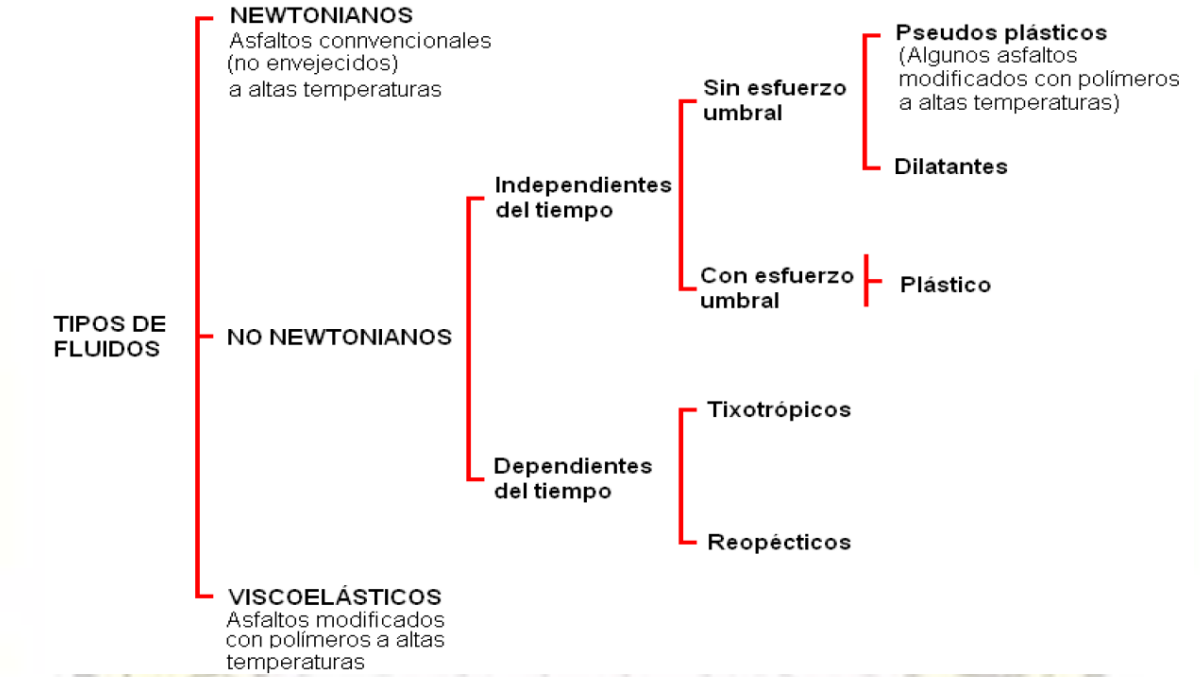
el comportamiento de materiales muy diferentes como asfalto, lubricantes, pinturas, plásticos y caucho, lo que da una idea del alcance de las numerosas disciplinas científicas que son propensos a estar involucrados. Hoy en día, el alcance es aún más amplio. Los avances significativos se han realizado en Bioreologia, en la reología de polímeros y en la reología de la suspensión. También ha habido una significativa apreciación de la importancia de la reología en las industrias de procesamiento químico. Oportunidades sin duda existen que hacen más extensas las aplicaciones de la reología en las industrias biotecnológicas. En la actualidad hay Sociedades nacionales de reología en muchos países. La Sociedad Británica de reología, por ejemplo, tiene más de 600 miembros integrados por científicos procedentes de entornos muy diferentes, incluyendo matemáticas, la física, la ingeniería y la química física [41].

2.5.1 PROPIEDADES REOLOGICAS

La reología se define como la ciencia de la deformación y el flujo de la materia. Las propiedades reológicas describen características de flujo y el comportamiento de textura de sustancias. El éxito de una amplia gama de productos comerciales y procesos industriales depende del cumplimiento de los requisitos de flujo específicas. El Comportamiento reológico se puede dividir generalmente en dos tipos: comportamiento elástico, donde el material recupera su forma original cuando se retira la fuerza

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

externa, y el comportamiento viscoso o de plástico (tal como en líquidos newtonianos ideales), donde la deformación cesa y el material no recobre su forma original cuando se retira la fuerza aplicada. El comportamiento de flujo de fluido se resume en la siguiente figura.



Fuente: L. García**.** Reología de ligantes asfálticos mediante el viscosímetro Brookfield.2009

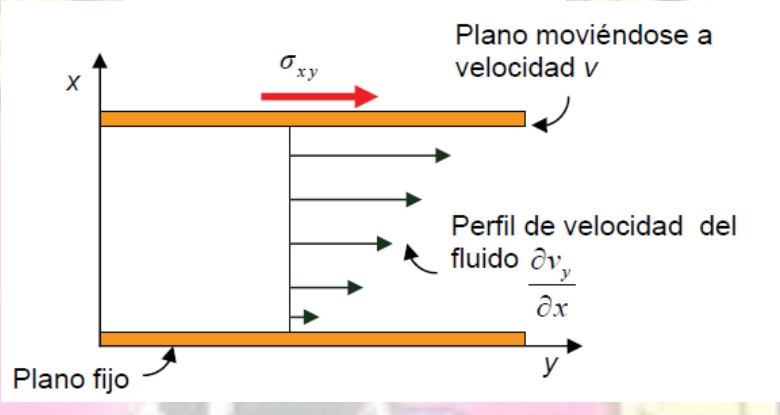
Figura 2.2: Comportamiento de flujo de fluidos

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

2.5.2 FLUIDOS NO-NEWTONIANOS

Un fluido Newtoniano es aquel en el que cumple que el esfuerzo de cizalla es proporcional a la velocidad de deformación, de acuerdo con la ecuación:

$$\sigma_{xy} = \mu \frac{\partial v_y}{\partial x} = \mu \dot{\gamma}$$



Fuente: E. Ibarola. Introducción a los Fluidos No-newtonianos. Cat. Mec. Fluidos.

Figura 2.3. Representación de fluido no newtoniano

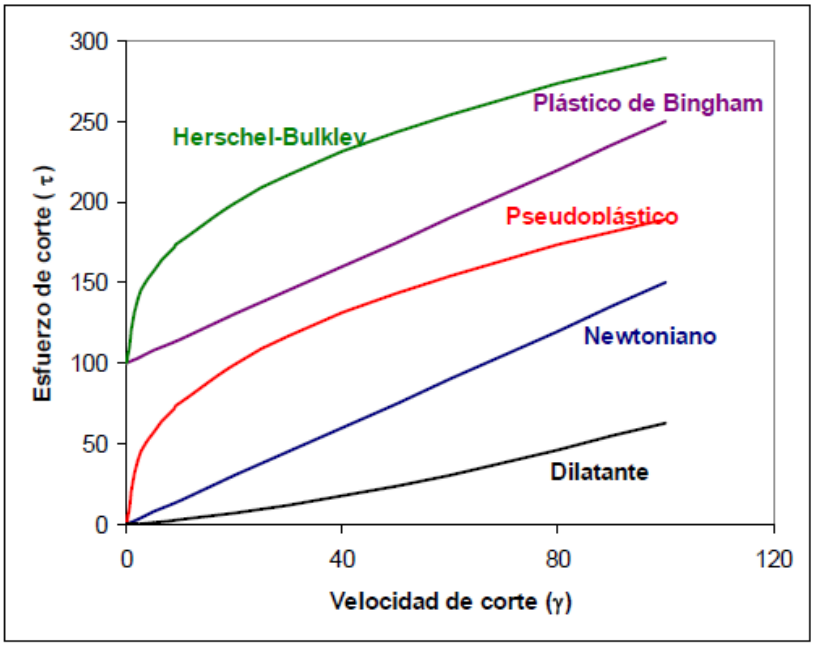
Donde σ_{xy} es el esfuerzo por unidad de área o esfuerzo de cizalla; $\dot{\gamma}$ el gradiente de velocidades o velocidad de deformación o cizalla y μ la viscosidad. Esto es lo mismo que decir que fluido newtonianos es aquel para el cual la viscosidad, a una temperatura y presión dadas, es constante para cualquier velocidad de deformación, independientemente del tiempo que se esté aplicando la cizalla. Por tanto, serán fluidos no newtonianos los que no cumplan está condición. Los fluidos no newtonianos, se puede agrupar en dos grandes categorías:

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

2.5.2.1 Fluidos que cambian con la velocidad de deformación.

a. Dilatantes: son aquellos fluidos que aumentan su viscosidad al aumentar la velocidad de deformación aplicada. Como ejemplo podríamos citar el almidón de maíz o las arenas movedizas
b. Pseudoplásticos: son aquellos fluidos que disminuyen su viscosidad al aumentar la velocidad de deformación aplicada. Como ejemplo podríamos citar zumos de frutas y diversas emulsiones.
c. Viscoplásticos o de comportamiento plástico: Son materiales que se comportan como un sólido elástico hasta el esfuerzo alcanza un valor umbral, una vez alcanzado este valor pasan a comportarse como fluidos donde el esfuerzo puede tener una dependencia lineal con la velocidad de deformación o no. Ejemplo de este comportamiento son la pasta de dientes, la mermelada o la clara de huevo.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa



Fuente: A. Esam. Rhelogical study of chitosan and its blends. Maejo. Int. J. Sci. Technol. Vol 4. (2010).

Figura 2.4. Representación de esfuerzo de corte vs. Velocidad de corte para distintos fluidos

2.5.2.2 Fluidos que cambian con el tiempo durante el esfuerzo.

a Tixotrópicos: Aquellos para los cuales la viscosidad disminuye con el tiempo. Este es el caso de pinturas o gelatinas. Experimentalmente es complicado ver la diferencia entre un fluido pseudoplástico y uno tixotópico, máxime cuando la mayoría de los fluidos tixotrópicos son pseudoplásticos.

b Reopécticos: Aquellos para los cuales la viscosidad aumenta con el tiempo. Sería el caso del poliéster.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

2.5.3 COMPORTAMIENTO REOLÓGICO DE QUITOSANO

El comportamiento reológico del quitosano depende de la concentración de su solución [20] encontró que la viscosidad de soluciones concentradas de quitosano aumenta al aumentar la concentración de quitosano y que un comportamiento de dilución por cizallamiento se observa en las concentraciones de polímero por encima de 0,50 g / dL. [21] informaron de que el comportamiento no newtoniano de soluciones de quitosano aumenta con el aumento de DD, esto se debe a la estructura de la expansión de la cadena y consecuente aumento de entrelazamiento. Mucha [22] también informó de un aumento en la tensión de cizallamiento y la viscosidad de las soluciones de quitosano con el aumento de concentración de quitosano también se debe al aumento en el entrelazamiento entre las cadenas macromoleculares.

La reología de dos sistemas acuosos de quitosano-no modificado el quitosano y modificada hidrofóbicamente el quitosano fue estudiado por Nyström et al [23]. Sus resultados revelaron que la viscoelasticidad lineal y no lineal se ven afectados por varios factores tales como el pH, la temperatura, la cantidad de agente tensioactivo, y la concentración de polímero. El HM-quitosano se encontró que estaba más influenciado por estos factores. Además, el comportamiento de fluidificación por cizalladura es más

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

pronunciada a velocidades de cizallamiento más altas para ambos sistemas. Hwang y Shin [24] observaron que la dependencia de la viscosidad velocidad de cizallamiento es más notable a concentraciones de quitosano más altas.

Martínez et al. [22] estudiaron la influencia de algunos parámetros tales como temperatura, tipo de ácido y la adición de la sal, sobre la reología la constante de cizallamiento de soluciones de quitosano concentrados. La viscosidad y la tensión normal se observaron a disminuir con el incremento de temperatura y disminución de la concentración de quitosano. Además, quitosano en soluciones de ácido clorhídrico exhibe viscosidad constante y tensión normal que en otras soluciones ácidas. La adición de sal se encontró que era el parámetro más eficaz sobre la reología de las soluciones de quitosano, es decir, la presencia de sal disminuye la viscosidad debido a la interacción entre las cadenas cargadas y pequeños iones en solución.

Bodek [25] estudiaron las propiedades reológicas de los hidrogeles de quitosano microcristalino preparados mediante la adición de un hidrogel de metilcelulosa a dispersiones acuosas de quitosano. Se encontró que, dependiendo del tipo y el contenido de las sustancias farmacéuticas, así como las interacciones entre el polímero y las sustancias farmacéuticas, un sistema de pseudo-plástico puede ser observado. Anchisi et al. [26] mostró que las

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

propiedades reológicas de dispersiones de quitosano se ven afectados por el peso molecular y que todas las dispersiones de quitosano muestran una pseudo-plástico y el comportamiento de fluidificación por cizalladura. También se encontró que la presencia de glicoles conduce a la disminución en la viscosidad aparente comparado con el de las dispersiones de base correspondiente.

La formación de hidrogeles de quitosano en un medio ácido acético-propanodiol agua fue reportado por Montembaulta et al [27]. La gelificación a diferentes concentraciones de polímero, el grado de acetilación (DA) de quitosano, y la composición del disolvente inicial fueron estudiados por reometría.

Fernandez et al. [28] informó de la reología de geles de quitosano con pesos moleculares diferentes (baja y media). Flujo no newtoniano independiente del tiempo se observó para los dos geles, con comportamiento pseudo-plástico para el gel de bajo peso molecular y el comportamiento plástico para gel de mediano peso molecular. Mironov et al. [29] informó de una disminución en la viscosidad dinámica de soluciones de quitosano en ácido acético durante el almacenamiento es debido a la degradación del polímero.

El efecto de algunos parámetros tales como temperatura, concentración, tiempo de cizallamiento y tiempo de almacenamiento

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

sobre las propiedades reológicas (viscosidad aparente y la tensión de cizallamiento) de quitosano disuelto en ácido acético fue reportado por Elhefian et al [30].

2.5.4 REOLOGIA DE SOLUCIONES ENTRECRUZADAS DE QUITOSANO

Argüelles-Monal et al. [31] informaron de un esfuerzo de fluencia aparente a muy bajas frecuencias para quitosano en solución de ácido acético y una reacción de reticulación entre el quitosano y el glutaraldehído, en el que se suponía que la química de reticulación entre los grupos aldehídicos de glutaraldehído y los grupos amino del quitosano que tendrá lugar sobre la débil red de auto-asociado del quitosano siendo reemplazado gradualmente por una red covalente permanente. Un fuerte gel permanente se reportó para formar a los niveles de reticulación superiores.

Moura et al. [32] informó de la reología de soluciones de quitosano reticulado con un agente de reticulación natural, genipina, en diversas concentraciones. Más fuertes geles elásticos de las soluciones reticuladas se obtuvieron bajo condiciones fisiológicas en comparación con las del componente puro.

Las partículas preparadas son hidrogeles físicos, ya que presentan una red tridimensional formada por uniones que no son

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

completamente estables y son más débiles que las uniones covalentes (hidrogeles químicos). El CS es un policatión y se aprovecha esta propiedad para que interactúe mediante fuerzas electrostáticas con aniones o moléculas aniónicas; en nuestro caso con el tripolifosfato (TPP), que es un ion polivalente de pequeño tamaño. Así, este hidrogel físico está formado por el CS entrecruzado iónicamente por el TPP.

2.5.5 MECANISMOS DE FORMACION DE GELES

La gelificación se refiere a la unión de cadenas macromoleculares juntas que conduce inicialmente a ser ramificada progresivamente más grandes todavía en polímeros solubles dependiendo de la estructura y la conformación del material de partida. La mezcla de dicho polímero ramificado soluble polidispersa se llama 'sol'. Continuación de los enlazan proceso resulta en el aumento del tamaño del polímero ramificado con la disminución de la solubilidad. Este 'polímero infinita' se llama el "gel" o "red" y está impregnado de polímeros ramificados finitos. La transición de un sistema con el polímero ramificado finito al infinito moléculas se llama "transición sol-gel" (o "gelificación") y el punto crítico donde aparece por primera vez en gel que se llama el 'punto de gel' (Rubinstein y Colby, 2003). La gelificación puede tener lugar ya sea por conexión física (gelificación física) o mediante la vinculación química (gelificación química). Geles físicos pueden ser

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

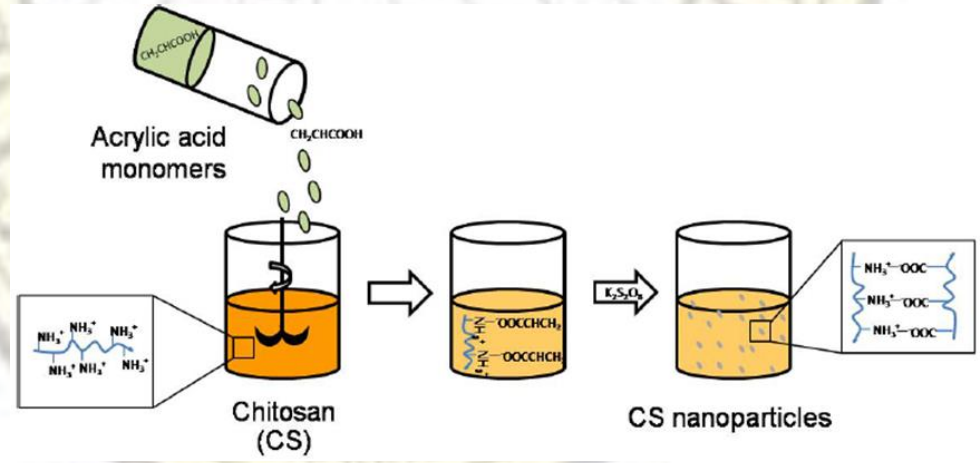
categorizados como sub fuertes geles físicos y geles débiles. Gel física tiene fuertes vínculos físicos entre cadenas de polímero y es efectivamente permanente en un determinado conjunto de condiciones experimentales. Por lo tanto, fuertes geles físicos son análogos a los geles químicos. Ejemplos de bonos físicos fuertes son microcristales laminares, nódulos vidriosos o hélices dobles y triples. Geles físicos débiles tienen enlaces reversibles formados a partir de asociaciones temporales entre cadenas. Estas asociaciones tienen vidas finitas, rompiendo y reformando continuamente. Ejemplos de bonos físicos débiles son enlaces de hidrógeno, micelas de copolímeros de bloque y asociaciones iónicas. Por otro lado, la gelificación química implica la formación de enlaces covalentes y siempre resulta en un gel fuerte. Los tres procesos principales de gelificación química incluyen la condensación, la vulcanización, y polimerización de adición.

2.5.6 GELACION IONICA

La técnica de gelificación ionotrópicos del quitosano (CS) se informó por primera Bodmeier et al. [33] para producir bolas de quitosano, estando adaptado más tarde por Calvo et al. [34] para la producción de nanopartículas, en un intento de producir estas nanoestructuras en un entorno hidrófilo completo. Este procedimiento explora el carácter catiónico de quitosano y se basa en la interacción entre los grupos amino cargados positivamente

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

presentes en la columna vertebral del quitosano y el polianión tripolifosfato (TPP), que actúa como agente de reticulación quitosano [34]. En este caso, las nanopartículas se forman inmediatamente después de dejar caer la solución de TPP en una solución de quitosano, con agitación suave, a temperatura ambiente (Figura 2.5). Después de aproximadamente 10 minutos de agitación, las nanopartículas en suspensión se centrifuga, se desechó lo sobrante y el sedimento resultante de nanopartículas se suspendió en agua. La Gelificación iónica debe ser referida en cualquier momento a la gelificación de quitosano, es inducida por una formación de complejos con moléculas pequeñas aniónicos, tales como fosfatos, citratos, sulfatos, etc. Cuando se utilizan en lugar de pequeñas moléculas macromoléculas cargadas negativamente, se produce una formación de complejos de polielectrolito [35].



Fuente: N. Calderón. Obtención y Caracterización de nanopartículas de CS por gelación iónica. Tesis. (2015)

Figura 2.5. Preparación nanopartículas de CS por el método de gelificación iónica modificada con polimerización radical.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

La puesta en marcha del protocolo para la preparación de nanopartículas de quitosano por gelificación iónica demostró la importancia de controlar varios parámetros considerados cruciales para tener éxito en su elaboración. Estos están relacionados principalmente con tanto el tipo de quitosano que se utiliza y las condiciones de preparación específicos. El quitosano existe bajo muchas estructuras químicas diferentes, estando disponible ya sea como una base o una sal (hay diferentes tipos de sal, tales como cloruro, lactato, glutamato, etc.), y con pesos moleculares diferentes y grados de desacetilación. Se han realizado varios estudios sobre la influencia de estas propiedades en las características de las nanopartículas de quitosano obtenidos [36], revelando que la estructura de quitosano determina las variables de preparación de nanopartículas, así como sus características finales, a saber, el tamaño y el potencial zeta. La influencia de estas características en el desempeño de polímero en la administración de fármacos de la mucosa y transmucosa también fue ampliamente revisado recientemente [37]. En cuanto a las condiciones experimentales, el patrón de agitación (velocidad y tipo de vial, es lo más importante) que se utilizan para el montaje de las nanopartículas y las condiciones de centrifugación (velocidad y duración) son los más importantes para obtener nanotransportadores adecuados [38]. En el caso específico de CS / TPP nanopartículas es muy importante para optimizar variables tales como quitosano y las concentraciones

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

de TPP, relación de masas entre los materiales, el tiempo y la velocidad de centrifugación y resuspensión de volumen. Sin embargo, estos son los parámetros que deben ser optimizados de manera general, independientemente de los materiales secundarios que forman nanopartículas.

Estas técnicas han estado afirmando importantes ventajas, entre las del medio ambiente hidrofílico completa y las condiciones de preparación leves, que sólo implican agitación suave [39], hay que destacar. De hecho, debido a la ausencia de disolventes orgánicos o fuerzas de cizallamiento altas, es posible encapsular fármacos tales como las proteínas [40]. El desarrollo de estos métodos para producir nanopartículas de quitosano activar un logro importante, ya que el uso de un examen físico de reticulación mediada por una interacción electrostática, en lugar de la química y covalente de reticulación con glutaraldehído, proporcionado la posibilidad de garantizar la viabilidad celular y la integridad de drogas [39].

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

CAPITULO III:

MARCO METODOLOGICO

3.1 MATERIALES

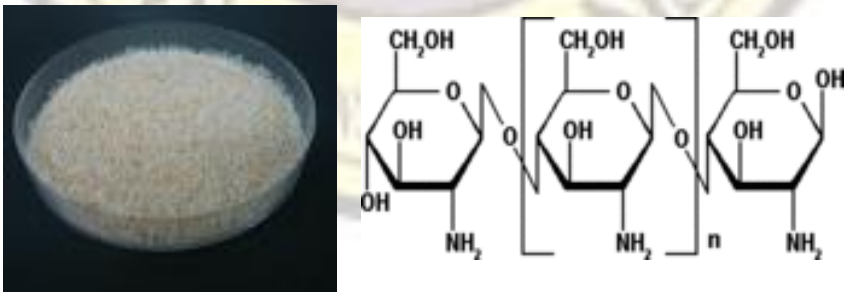
3.1.1 Quitosano

E **quitosano**, también llamado **chitosán** (del griego χιτών "coraza"), es un polisacárido lineal compuesto de cadenas distribuidas aleatoriamente de β-(1-4) D-glucosamina (unidades deacetiladas) y N-acetil-D-glucosamina (unidad acetilatada). El quitosano utilizado en la presente investigación se ha obtenido de caparazones de langostino colorado (*Pleuroncodes monodon*).La ficha técnica proporcionada por la empresa QUITOQUIMICA presenta las siguientes características:

Tabla 3.1: Principales propiedades fisicoquímicas del CS utilizado

Características	Valor
Pureza	98%
Peso Molecular (Mv)	100-300 kDa
Grado de desacetilación (DD)	90-98%
Viscosidad	30-300 cP

Fuente: Empresa QUITOQUIMICA



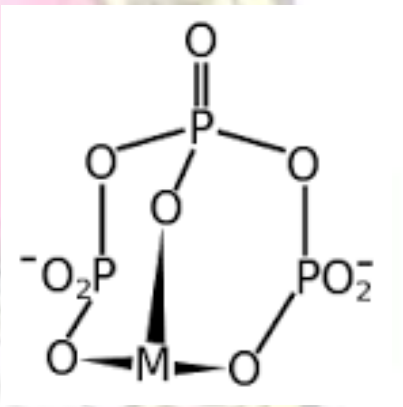
Fuente: Empresa QUITOQUÍMICA

Figura 3.1: Estructura cristalina y unidad básica del CS

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

3.1.2 Tripolifosfato de Sodio (TPP).

Es un compuesto inorgánico de fórmula $Na_5P_3O_{10}$. Se trata de la sal de sodio del polifosfato penta-anión, que es la base conjugada del ácido trifosfórico. Su masa molecular 367,864 g/mol y su densidad es 2,52 g/cm^3. La unidad básica de este tipo de compuesto es el fósforo atómico, rodeado de 4 átomos de oxígeno en forma de tetraedro. Su estructura cristalina en polvo o gránulos es de color blanco. El TPP utilizado en esta investigación fue obtenido de la empresa DIPROQUIM.



Fuente: Empresa DIPROQUIM

Figura 3.2: Estructura cristalina y unidad básica del TPP

3.1.3 Acetato de Sodio (AcNa)

El acetato de sodio, también llamado etanoato de sodio, es la sal de sodio del ácido acético. Es un producto químico económico producido en cantidades industriales para una amplia gama de usos. Su fórmula es: $C_2H_3NaO_2$, masa molar: 82,0343 g/mol y densidad: 1,53 g/cm³.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

Fuente: https://es.wikipedia.org/wiki/**Acetato_de_sodio**

Figura 3.2: Estructura cristalina y unidad básica del AcNa

3.1.4 Ácido Acético (HAc)

El ácido acético, ácido metilcarboxílico o ácido etanoico, se puede encontrar en forma de ion acetato. Éste es un ácido que se encuentra en el vinagre, siendo el principal responsable de su sabor y olor agrios. Su fórmula es: $C_2H_4O_2$, masa molar: 60,05 g/mol y densidad: 1,05 g/cm³.

Fuente: https://es.wikipedia.org/wiki/**Ácido_acético**

Figura 3.3: Presentación y unidad básica del HAc

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

3.1.5 Hidróxido de Sodio (NaOH)

El hidróxido de sodio o hidróxido sódico, también conocido como soda cáustica o sosa cáustica, es un hidróxido cáustico usado en la industria en la fabricación de papel, tejidos, y detergentes. En la presente investigación se utilizó este compuesto para valorar la solución de CS con HCl y determinar el grado de acetilación. Su fórmula es: NaOH; Masa molar**:** 39,997 g/mol y Densidad**:** 2,13 g/cm³.

Fuente: https://es.wikipedia.org/wiki/**Hidróxido_de_sodio**

Figura 3.4: Estructura cristalina y unidad básica del NaOH

3.1.6 Ácido Clorhídrico (HCl)

El ácido clorhídrico todavía ocasionalmente llamado, ácido hidroclórico, agua fuerte o salfumán, es una disolución acuosa del gas cloruro de hidrógeno. Es muy corrosivo y ácido. Fórmula**:** HCl y Masa molar**:** 36,46094 g/mol.

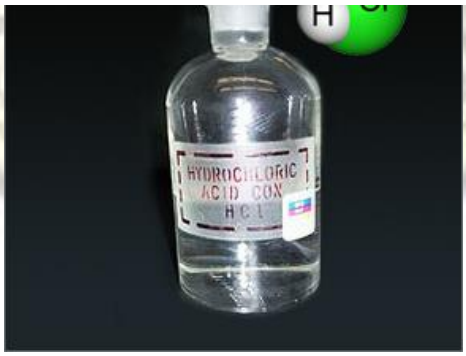


Figura 3.5: Presentación y unidad básica del HCl

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

3.2 PROCEDIMIENTOS

3.2.1 Determinación del Peso Molecular Viscoso

De la literatura, se conoce que para muestras de CS cuyo grado de acetilación (DA) es menor que 20 se prepara una solución madre con 0,1% de CS con el solvente **0.3 M HAc/0.2 M NaAc** (1:1, v/v, pH=4.44) (Rinaudo et al. 1993). Estas soluciones fueron gradualmente diluidas cuatro veces y pasadas cada una de ellas por el viscosímetro capilar Ubbelhode, el cual tiene acoplado un dispositivo llamado VISCOCLOCK, que mide automáticamente el tiempo de paso de cada solución a través de una pantalla LCD. Antes de pasarlas por el viscosímetro las soluciones fueron filtradas para separar alguna impureza presente.

Fuente: Elaboración propia

Figura 3.6: Viscosímetro capital Ubberhode y VISCOCLOCK para determinar el peso molecular viscoso del CS

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

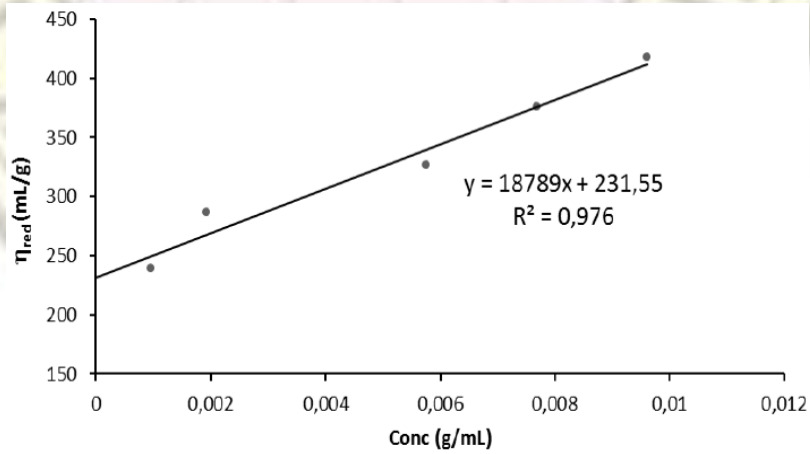
Todas las medidas se hicieron a una temperatura constante de 23 ºC. Se realizaron cuatro medidas de cada muestra, más una medida del solvente, la cual servirá para calcular la viscosidad intrínseca de cada muestra [η]. En la siguiente tabla se muestran las relaciones que es necesario calcular, antes de determinar la viscosidad intrínseca.

Tabla 3.1: Parámetros Viscosimétricos

Nombre común	*Símbolo y ecuación que lo define*
Viscosidad relativa	$\eta_r = \eta / \eta_o = t / t_o$
Viscosidad específica	$\eta_{sp} = \eta_r - 1 = (\eta - \eta_o)/ \eta_o \cong (t - t_o)/ t_o$
Viscosidad reducida	$\eta_{red} = \eta_{sp} / C$
Viscosidad inherente	$\eta_{inh} = (\ln \eta_r) / C$
Viscosidad intrínseca	$[\eta] = (\eta_{sp} / C)_{C=0} = [(\ln \eta_{red}) / C]_{C=0}$

Fuente: N. de la Paz. Evaluación Viscosimétrica del Quitosano derivado de la quitina de la langosta. Revista Iberoamericana de Polímeros. V.14. (2003)

La viscosidad intrínseca se obtiene representando la viscosidad reducida versus la concentración de CS (g/ml) a concentración cero. Es decir el intercepto de una recta.



Fuente: N. de la Paz. Evaluación Viscosimétrica del Quitosano derivado de la quitina de la langosta. Revista Iberoamericana de Polímeros. V.14. (2003)

Figura 3.7: Determinación de la viscosidad intrínseca

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

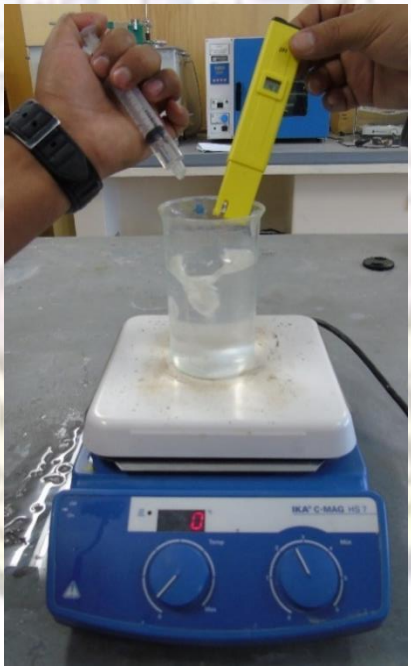
El peso molecular promedio puede obtenerse utilizando la ecuación de Mark-Houwink, la cual proporciona la relación entre la viscosidad intrínseca y el peso molecular viscoso (M_w).

$$[\eta]=K(M_w)^a$$

Donde las constante *K* y *a* están dadas en la literatura para cada solvente utilizado. En nuestro caso para el solvente utilizado K= 0,076 ml/g a=76 respectivamente [42].

3.2.2 Determinación del Grado de Acetilación (DA)

Para determinar el DA se pesó 0,2g de CS seco, el cual fue disuelto en 20 ml de 0,1 M de HCl y 25 ml de agua destilada. Después de agitación continua por 30 minutos, se añade la próxima porción de agua destilada (25 ml) y se continúa agitando por 30 minutos más. Cuando el CS se disuelve completamente se titula con una solución 0,1 mol/dm^3 de NaOH gota a gota.



Fuente: Elaboración propia

Figura 3.8: Determinación del DA por el método potenciométrico o titulación

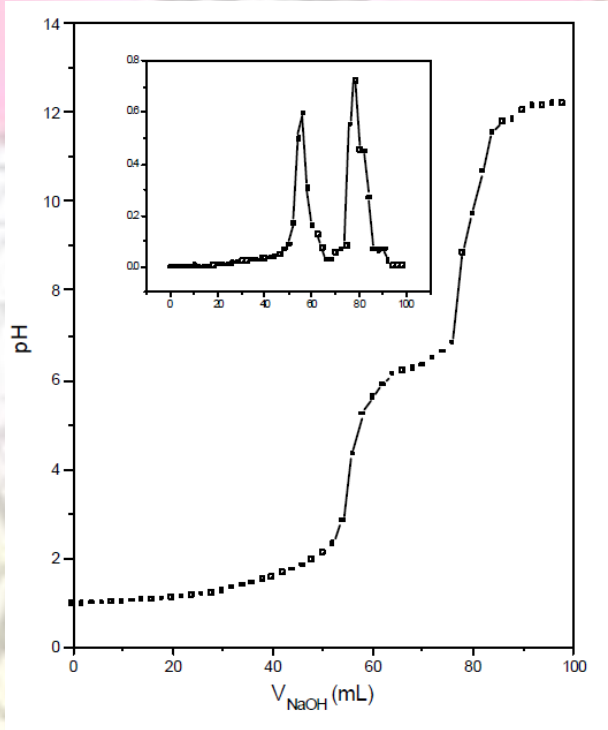
Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

El grado de acetilación (DA) se puede calcular mediante le siguiente fórmula:

$$DA[\%] = 2{,}03\frac{V_2 - V_1}{m + 0{,}0042(V_2 - V_1)}$$

Donde m es el peso de la muestra, V_1 y V_2 son los volúmenes de NaOH correspondiente a los puntos de deflexión. 2,03 es el coeficiente resultante del peso molecular del monómero quitina y 0,0042 es el coeficiente resultante de la diferencia entre los pesos moleculares de los monómeros de quitina y quitosano [43].

Los valores de V_1 y V_2 se obtienen de la curva pH versus el NaOH añadido. Para determinar estos valores con mayor precisión se utiliza la primera derivada calculada numéricamente.



Fuente: L. Parada. Caracterización de quitosano por viscometría capilar y valoración potenciométrica. Revista Iberoamericana de Polímeros. Vol. 51 (2004).

Figura 3.9: Curva típica de valoración potenciométrica de CS en la que se muestra los dos puntos de inflexión que permiten determinar el DA de la muestra

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

La diferencia de volumen entre estos dos puntos corresponde con el ácido consumido para la protonación de los grupos amino y permite la determinación del grado de acetilación del CS.

3.2.3 Determinación de la viscosidad de las soluciones de CS+TPP

La medición de la viscosidad de las soluciones estudiadas se realizó utilizando un viscosímetro rotacional Modelo VISCOLEAD ONE R que permite trabajar con 18 velocidades de 0,3 a 100 RPM y medir viscosidades de soluciones entre 100 y 1300000 de cP. La medida de lo viscosidad lo presenta directamente en una pantalla LCD.

Fuente: Elaboración propia

Figura 3.10: Viscosímetro rotacional utilizado para medir las viscosidad de las soluciones CS+TPP

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

Antes de medir la viscosidad de las soluciones estudiadas, éstas fueron homogenizadas a temperatura ambiente y agitadas previamente por 24 horas.

Fuente: Elaboración propia

Figura 3.11: Acondicionamiento previo de las soluciones en un agitador magnético

3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL UTILIZADO

Para estudiar el efecto de la concentración de CS y del TPP se propuso un diseño factorial $N=2^2$ con 3 réplicas centrales. Las concentraciones CS y del TPP variaron entre 1 y 3% respectivamente en las soluciones preparadas, las cuales se muestran en la siguiente tabla:

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

Tabla 3.2: Pruebas consideradas en el diseño factorial $N=2^2+3$

Prueba	QUITOSANO		TPP		ACIDO ACETICO (ml)	VOLUMEN TOTAL (ml)
1		1%		1%	7.4	500
	Peso	4.2 gr	Peso	0.8 gr		
	Volumen	420 ml	Volumen	80 ml		
2		1%		3%	7.4	500
	Peso	4.2 gr	Peso	2.4 gr		
	Volumen	420 ml	Volumen	80 ml		
3		3%		1%	22.05	500
	Peso	12.6 gr	Peso	0.8 gr		
	Volumen	420 ml	Volumen	80 ml		
4		3%		3%	22.05	500
	Peso	12.6 gr	Peso	2.4 gr		
	Volumen	420 ml	Volumen	80 ml		
5		2%		2%	14.7	500
	Peso	8.4 gr	Peso	1.6 gr		
	Volumen	420 ml	Volumen	80 ml		
6		2%		2%	14.7	500
	Peso	8.4 gr	Peso	1.6 gr		
	Volumen	420 ml	Volumen	80 ml		
7		2%		2%	14.7	500
	Peso	8.4 gr	Peso	1.6 gr		
	Volumen	420 ml	Volumen	80 ml		

Fuente: Elaboración propia

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

Para todas las pruebas bajo las condiciones especificadas por la tabla anterior, se utilizó el husillo R2 y una velocidad de 100 rpm. Además para las muestras cuyas viscosidadades fueron mayores a 100 cP, se adicionaron mediciones a 60, 50 y 30 rpm respectivamente, para observar su comportamiento reológico.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL QUITOSANO

4.1.1 Determinación del Peso Molecular Viscoso

Como se indicó en el capítulo anterior, cuando la viscosidad reducida se representa contra la concentración de la solución, el intercepto corresponde a la viscosidad intrínseca ([η]). La tabla siguiente muestra las concentraciones diluidas secuencialmente versus los tiempos de paso por el capilar del viscosímetro VISCOCLOCK.

Tabla 4.1: Tiempos de paso por el viscosímetro VISCOCLOCK

Prueba	Concentración (g/ml)	t_1 (seg.)	t_2 (seg.)	t_3 (seg.)	t_4 (seg.)	$\bar{t}$ (seg.)
Solvente	0,00000	110,01	108,28	109,34	108,29	108.98
Solución4	0,00125	195,34	196,20	193,32	195,85	195.18
Solución3	0,00167	237,33	237,59	235,45	235,83	236.55
Solución2	0,00250	318,40	316,34	318,50	317,65	317.72
Solución1	0,00333	386,45	388,49	387,92	387,39	387.56

Fuente: Elaboración propia

Una vez calculados los tiempos promedio se procede a calcular la viscosidad reducida teniendo en cuenta las relaciones vistas en el capítulo anterior. Esto se observa en la siguiente tabla:

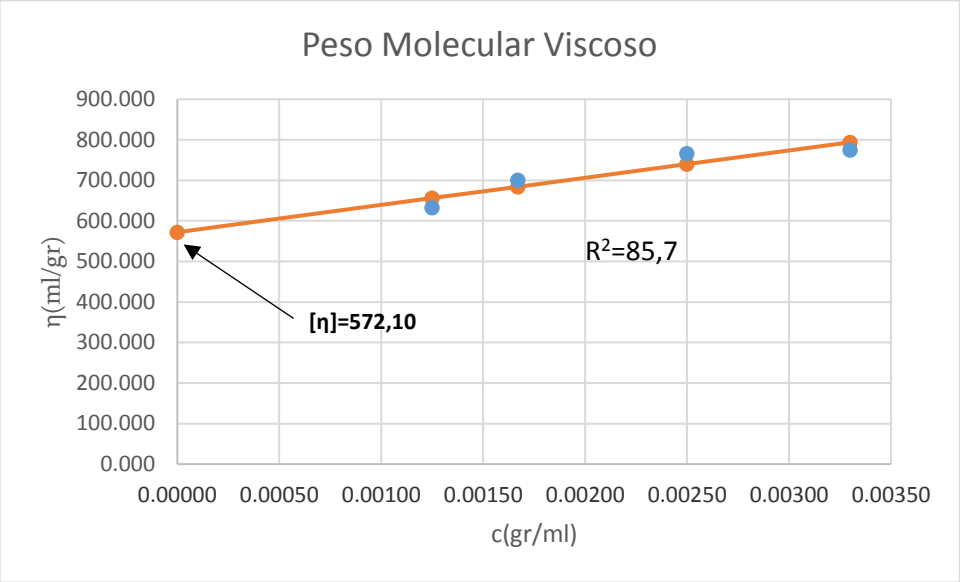
Tabla 4.2: Cálculo de la viscosidad reducida

Concentración (g/ml)	$\bar{t}$ (seg.)	$\eta_{relativa}$	$\eta_{específica}$	$\eta_{inherente}$	$\eta_{reducida}$	$\eta_{calculada}$
0,00000	108.98					572.1015
0,00125	195.18	1.791	0.791	466.196	632.758	656.1175
0,00167	236.55	2.171	1.171	464.069	700.947	684.3468
0,00250	317.72	2.915	1.915	428.006	766.168	740.1334
0,00333	387.56	3.556	2.556	384.458	774.628	793.9037

Fuente: Elaboración propia

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

Si representamos un en gráfico la viscosidad reducida versus la concentración de la solución podemos calcular el intercepto, equivalente a la viscosidad intrínseca.



Fuente: Elaboración propia

Gráfico 4.1: Determinación de la viscosidad intrínseca

Del gráfico podemos evidenciar de que la viscosidad intrínseca [η]=572,10 ml/g. Utilizando la ecuación de Mark-Houwink y conociendo las constantes K= 0,076 ml/g y a=0,76 para la solución utilizada de 0,3 M HAc/0,2 M NaAc, determinamos el peso molecular promedio viscoso del quitosano utilizado en nuestro experimento:

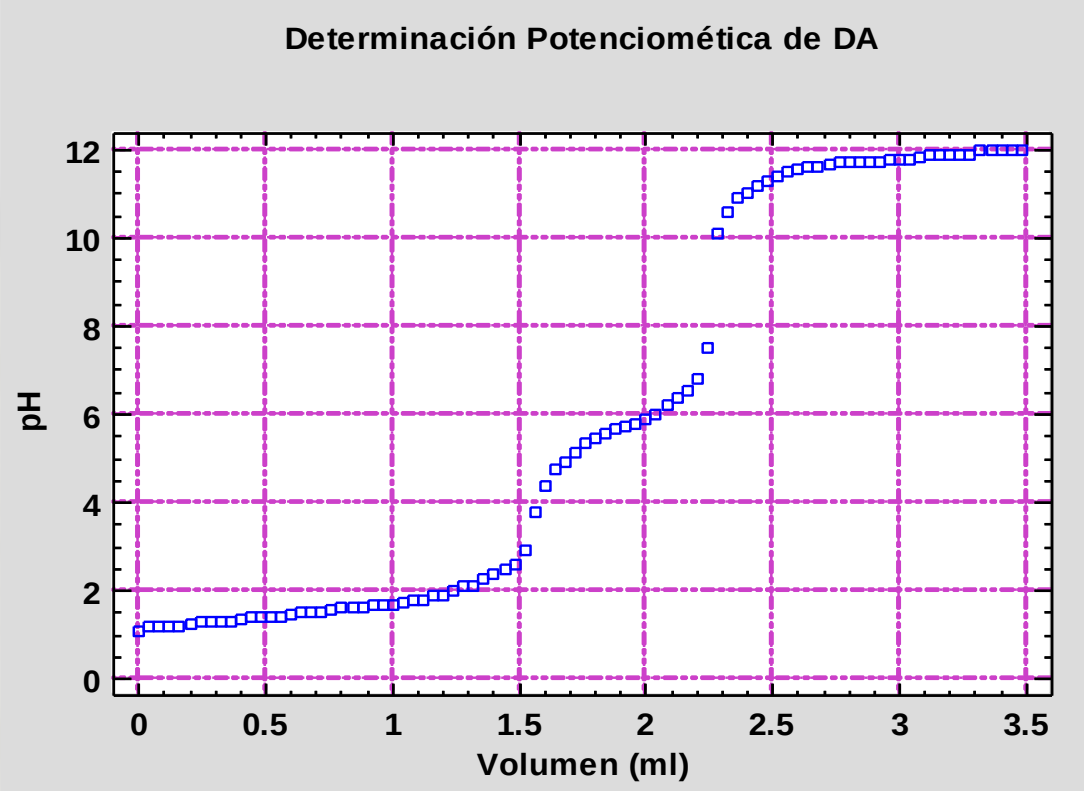
$$M_w = 10^{\left(\frac{\log(572{,}10) - log\,0{,}076}{0{,}76}\right)} = 126\,144{,}33\,\frac{g}{mol} = 126{,}144\,kDa$$

Este peso molecular corresponde a un quitosano de peso molecular mediano, el cual es bien conocido como un producto policatiónico, no tóxico, biodegradable y antimicrobiano, cuyas aplicaciones son conocidas en el campo de los alimentos, farmaceutico y cosmética.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

4.1.2 Determinación del Grado de Desacetilación

Los resultados de la variación del pH de la solución de quitosano con HCL valorado con NAOH gota a gota (0,04 ml) se muestran en el siguiente gráfico:



Fuente: Elaboración propia

Gráfico 4.2: Valoración potenciométrica con NaOH

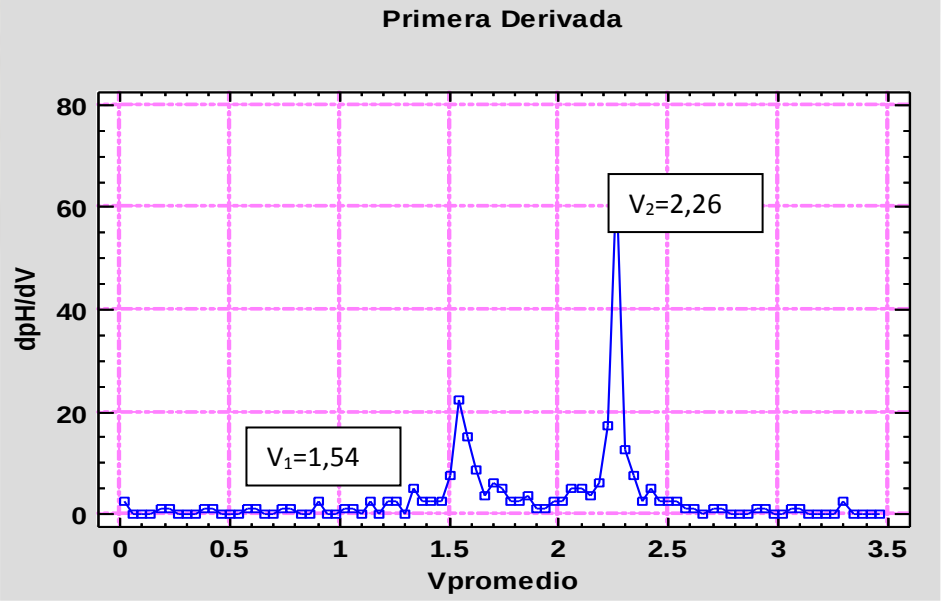
En el gráfico se observan dos valores de inflexión, los cuales pueden ser determinados con mayor precisión utilizando la primera derivada obtenida mediante cálculo numérico ($dpH/dV \approx \Delta pH/\Delta V$). Parte de estos cálculos de muestran en la siguiente tabla:

Tabla 4.3: Cálculo numérico de la primera derivada

pH	V(ml)	ΔV	ΔpH	ΔpH/ΔV	Vprom
1.1	0	0.04	0.10	2.50	0.02
1.2	0.04	0.04	0.00	0.00	0.06
1.2	0.08	0.04	0.00	0.00	0.10
1.2	0.12	0.04	0.00	0.00	0.14
1.2	0.16	0.04	0.05	1.25	0.18
1.25	0.2	0.04	0.05	1.25	0.22
1.3	0.24	0.04	0.00	0.00	0.26
1.3	0.28	0.04	0.00	0.00	0.30
1.3	0.32	0.04	0.00	0.00	0.34
1.3	0.36	0.04	0.05	1.25	0.38
11.9	3.2	0.04	0.00	0.00	3.22
11.9	3.24	0.04	0.00	0.00	3.26
11.9	3.28	0.04	0.10	2.50	3.30
12	3.32	0.04	0.00	0.00	3.34
12	3.36	0.04	0.00	0.00	3.38
12	3.4	0.04	0.00	0.00	3.42
12	3.44	0.04	0.00	0.00	3.46
12	3.48				

Fuente: Elaboración Propia

El gráfico respectivo que permite determinar con mayor precisión los puntos de inflexión se muestra a continuación:



Fuente: Elaboración propia

Gráfico 4.3: Determinación de los puntos de inflexión con la primera derivada

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

Con los valores obtenidos del gráfico se procede a calcular el grado de acetilación (DA) del quitosano utilizado.

$$DA(\%) = 2{,}03\frac{2{,}26 - 1{,}54}{0{,}2 + 0{,}0042(2{,}26 - 1{,}54)} = 7{,}19\ \%$$

Por lo tanto el grado de desacetilación (DDA) del quitosano será:

$$DDA(\%) = 100 - 7{,}19 = 92{,}81\ \%$$

Este valor está de acuerdo a lo proporcionado con la ficha técnica del fabricante y corresponde a un quitosano con alto grado de radicales amino, lo que significa con gran potencial reactivo policatiónico.

4.2 Efecto de la concentración de quitosano y TPP sobre la viscosidad de las soluciones

Los resultados de las viscosidades medidas en el viscosímetro rotacional utilizando un diseño factorial 2^2 se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 4.4: Resultados del diseño factorial 2^2

Prueba	Quitosano	TPP	η (cP)
1	1	1	46,43
2	3	1	249,64
3	1	3	31,20
4	3	3	287,67
5	2	2	148,36
6	2	2	156,34
7	2	2	174,43

Fuente: Elaboración propia

A continuación se estiman los efectos de la adición de quitosano y TPP sobre la viscosidad de las soluciones preparadas. Esto lo podemos observar en la siguiente tabla:

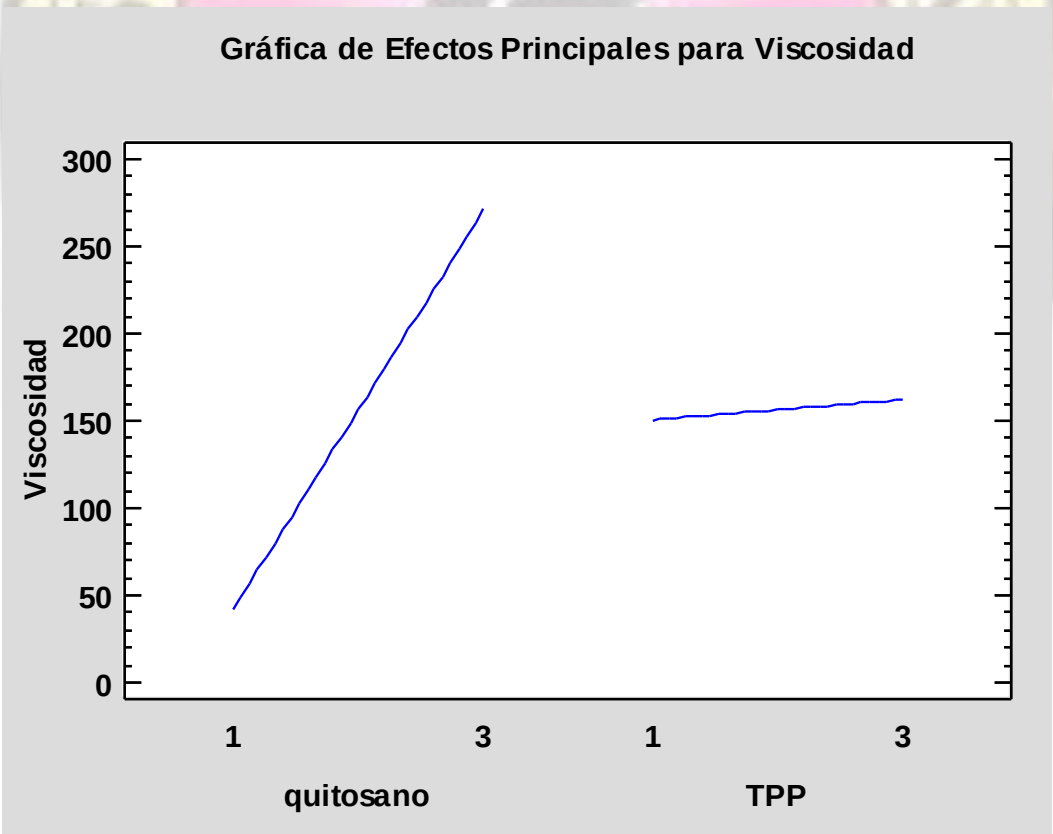
Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

Tabla 4.5: Efectos estimados del quitosano y TPP

Efecto	*Estimado*	*Error Estd.*	*V.I.F.*
promedio	156.367	5.02604	
A:quitosano	229.84	13.2976	1.0
B:TPP	11.4	13.2976	1.0
AB	26.63	13.2976	1.0

Fuente: Elaboración Propia

De la tabla podemos concluir que al aumentar de 1 a 3% w/V de quitosano la solución incrementa su viscosidad en 229,84 cPoises, mientras que al aumentar el TPP en las mismas proporciones solo se incrementa la viscosidad en 11,4 cpoises. Lo que significa que la viscosidad de las soluciones de quitosano depende fundamentalmente de la concentración del quitosano añadido. Esto se puede corroborar gráficamente.



Fuente: Elaboración propia

Gráfico 4.4: Efecto de las variables estudiadas sobre la viscosidad de las soluciones

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

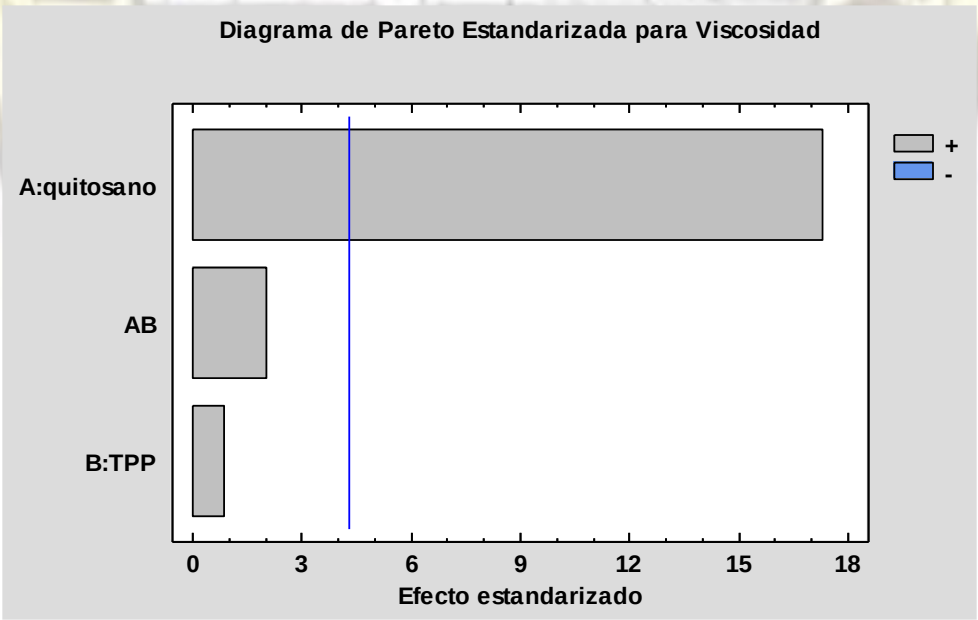
En el gráfico se observa que el efecto del quitosano es mucho mayor que el efecto del TPP sobre la viscosidad de las soluciones estudiadas. Para corroborar esta afirmación se presenta a continuación la tabla de análisis de varianza de las variables estudiadas sobre la viscosidad de las soluciones.

Tabla 4.6: Análisis de Varianza para las variables estudiadas

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
A:quitosano	52826.4	1	52826.4	298.75	0.0033
B:TPP	129.96	1	129.96	0.73	0.4816
AB	709.157	1	709.157	4.01	0.1831
Falta de ajuste	64.663	1	64.663	0.37	0.6068
Error puro	353.654	2	176.827		
Total (corr.)	54083.9	6			

Fuente: Elaboración propia

De la tabla anterior se concluye que por ser el valor de p<0,01 podemos afirmar con un 99% de confianza que la viscosidad de las soluciones estudiadas dependen exclusivamente de la cantidad de quitosano añadida. Esto queda reafirmado con el diagrama de Pareto para los efectos de ambas variables.



Fuente: Elaboración propia

Gráfico 4.5: Importancia relativa de los efectos de las variables estudiadas

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

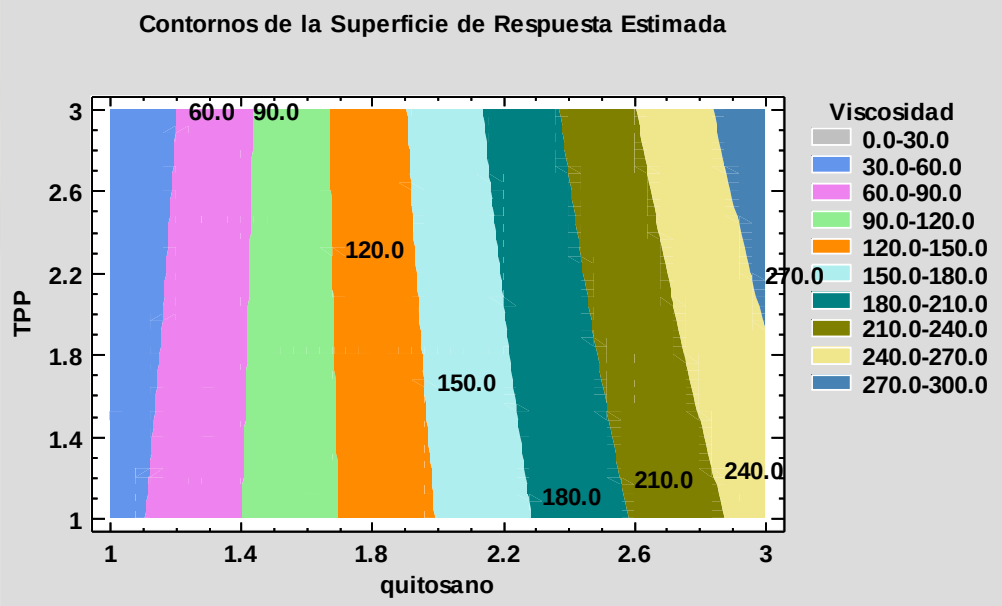
Del gráfico se concluye que el efecto de la variable quitosano es aproximadamente diez veces más importante que el efecto de la variable TPP sobre la viscosidad de las soluciones estudiadas. La raya vertical pone en evidencia que el TPP no es significativa (no influye) sobre la viscosidad de las soluciones.

Al cuantificar el efecto de las adiciones de quitosano y TPP sobre la viscosidad de las soluciones estudiadas se puede estimar por mínimos cuadrados un modelo de regresión múltiple que se presenta a continuación:

Viscosidad = -31.6129 + 88.29*quitosano - 20.93*TPP + 13.315*quitosano*TPP

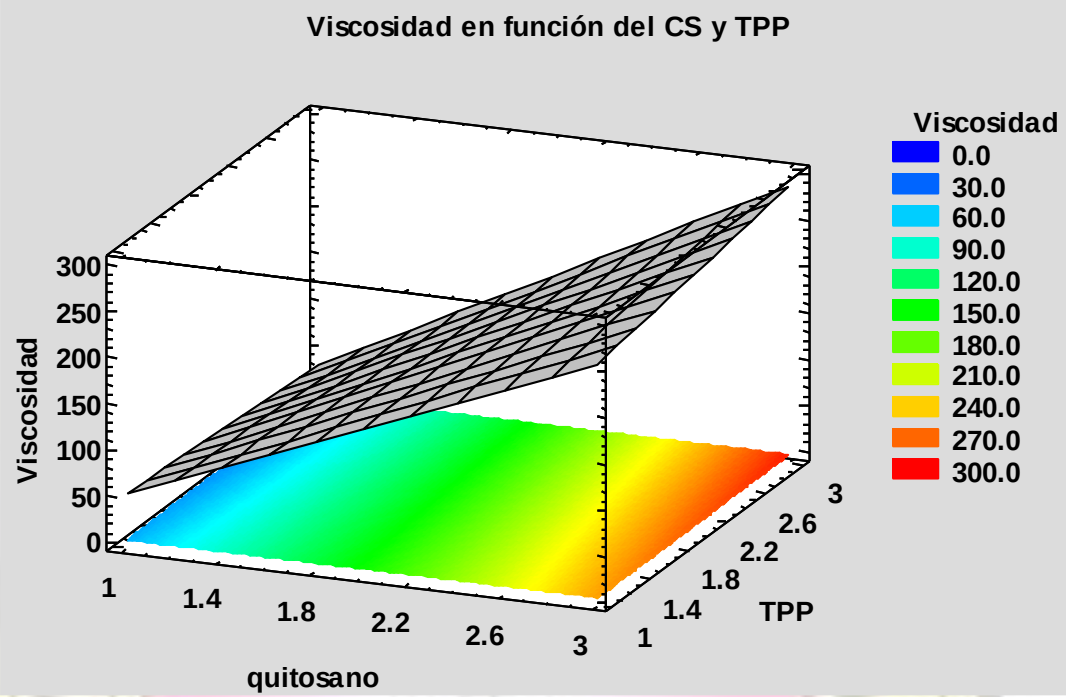
R^2= 99,22%

Este valor de R^2 significa que la viscosidad de las soluciones estudiadas queda determinadas en un 99% por la cantidad de quitosano añadido. Su representación gráfica permite visualizar como se podría controlar la viscosidad de una determinada solución como función del quitosano añadido.



Fuente: Elaboración propia

Gráfico 4.6: Curvas de nivel para viscosidades de soluciones en función al quitosano añadido



Fuente: Elaboración propia

Gráfico 4.7: Superficie respuesta para viscosidades de soluciones en función al quitosano y TPP añadidos

El gráfico anterior permite visualizar como al aumentar la concentración de CS aumenta intensamente la viscosidad de las soluciones, contrariamente al aumento de TPP, la viscosidad aumenta sólo ligeramente. Esto permite deducir que podríamos aumentar a voluntad el entrecruzamiento de las cadenas poliméricas sin alterar sustancialmente la viscosidad de las soluciones.

4.3 Comportamiento reológico de las soluciones de quitosano

La siguiente tabla muestra el efecto de la velocidad sobre la viscosidad medida en las soluciones de CS+TPP a diferentes concentraciones.

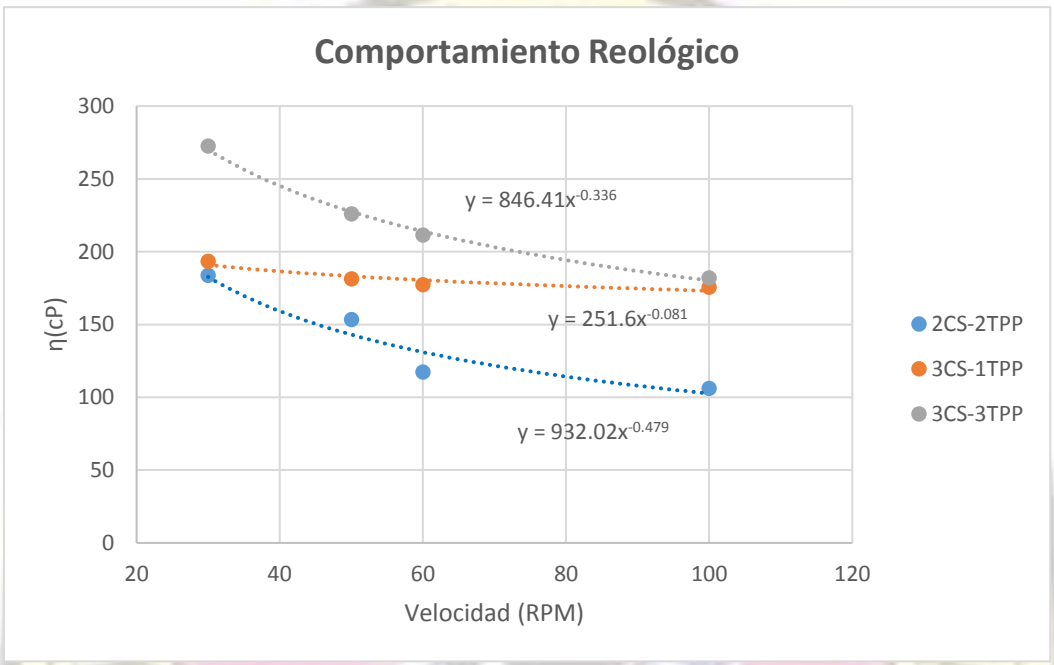
Tabla 4.7: Efecto de la velocidad sobre la viscosidad de las soluciones

Velocidad (rpm)	η (Cp)$_{2CS\text{-}2TPP}$	η (Cp)$_{3CS\text{-}1TPP}$	η (Cp)$_{3CS\text{-}3TPP}$
30	183.8	193.4	272.5
50	153.5	181.4	225.9
60	117.4	177.4	211.4
100	106.1	175.6	182.0

Fuente: Elaboración propia

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

Si representamos los valores de la viscosidad versus la velocidad de corte obtenemos la siguiente figura:



Fuente: Elaboración propia

Figura 4.8: Efecto de la velocidad sobre la viscosidad de las soluciones de CS-TPP

En todos los casos se observa un decrecimiento de la viscosidad con el aumento de la velocidad de corte, este comportamiento corresponde a un fluido no-newtoniano pseudoplástico y es característico de las disoluciones de polímeros, como es el caso nuestro. Al ajustar los datos a un modelo potencial, se observa que todas las potencias son negativas y menores que uno, característicos de los índices de pseudoplasticidad.

La pseudoplasticidad de las soluciones CS-TPP se puede explicar de acuerdo a la formación y ruptura de interacciones entre las moléculas del polímero y al desenmarañamiento de las mismas. Cuando comienza a actuar un esfuerzo de cizalla sobre el fluido se produce una mayor destrucción de las

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

interacciones entre las cadenas poliméricas, pero la movilidad térmica es capaz de compensarlas creándolas por otra parte, dando lugar a cambios apenas observables en la viscosidad del fluido.

Sin embargo, si se continúa aumentando el esfuerzo de cizalla, se puede alcanzar un momento a partir del cual se destruyen más interacciones de las que se crean, dando lugar a una pérdida de la estructura presente; por otra parte, se puede producir también un desenmarañamiento y una alineación de las cadenas poliméricas, que produce una mayor separación entre ellas, siendo el resultado neto de ambos efectos un descenso en la viscosidad del fluido (pseudoplasticidad) [44].

Por otro lado, si bien es cierto que el TPP origina entrecruzamiento entre las cadenas poliméricas, lo hace segregando porciones coloidales de la solución original, lo que implica también disminución de la viscosidad en la zona no coloidal (la más numerosa). Estas zonas coloidales contienen nano partículas de CS muy utilizadas en la liberación de fármacos en el cuerpo humano, lo que ha capturado la atención de muchos investigadores.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Las conclusiones a las que se han arribado estudiando el comportamiento reológico de soluciones de CS+TPP son las siguientes:

a) Mediante la viscometría se ha calculado el peso molecular viscoso del CS utilizado en nuestro estudio, alcanzado un valor de 126, 144 kDa, el cual se considera un peso molecular mediano, de amplísima aplicación. Este cálculo se encuentra dentro del rango dado por la ficha técnica del fabricante.(100 a 300 kDa).

b) Mediante la valoración potenciométrica se ha determinado el grado de desacetilación (DD) o grupos aminos libres, el cual alcanza un valor de 92,81%. Esto corresponde a un CS de alta reactividad policatiónica y está dentro del rango dado por el fabricante (90 a 98%).

c) Al estudiar las mezclas CS+TPP se concluye con un grado de confianza del 99% que la viscosidad de las soluciones depende exclusivamente de la concentración de CS considerada. El TPP no influye en la viscosidad, pero si forma zonas coloidales de cadenas entrecruzadas donde se encuentran atrapadas nano partículas de CS.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

d) En todos los casos se observa disminución de la viscosidad al aumentar la velocidad de corte, lo que significa que estas soluciones de CS+TPP tienen un comportamiento de fluido no-newtoniano pseudoplástico, el cual dependerá de la cantidad de CS añadida.

5.2 RECOMENDACIONES

a) Se recomienda adquirir un acoplamiento para medir viscosidades menores a 100 cP, para una mejor caracterización de este tipo de soluciones CS+TPP.

b) Se recomienda también caracterizar morfológicamente estas soluciones vía SEM para tener un mejor entendimiento del entrecruzamiento que provoca el TPP.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Couvreur et al . 1979, Takeuchi et al. 1996, Vila et al. 2002, Krauland y Alonso 2007.
2. Domard, A. and Cartier, N. 1989. Glucosamine oligomers: 1. Preparation and characterization. Int J Biol Macromol 11(5): 297–302.
3. Imoto, T. and Yagshito, K. 1971. A simple activity measurement of lysozyme. Agric Biol Chem 35(7): 1154–1156.
4. Determination of degree of deacetylation of chitosan comparision of methods Renata Czechowska-Biskup, Diana Jarosińska1,Bożena Rokita, Piotr Ulański, Janusz M. Rosiak- Poland-2012
5. Ke, H. and Chen, Q. 1990. Potentiometric titration chitosan by linear method. Chem Bull (10): 44–46.
6. Lin, R., Jiang, S., and Zhang, M. 1992. Determination of deacetylation degree. Chem Bull (3): 39–42.
7. Sannan, T., Kurita, K., Ogura, K., and Iwakaru, T. 1978. Studies on chitin: 7. I.R. spectroscopic determination of degree of deacetylation. Polymer 19(4): 458–459.
8. Rathke, T. and Hudson, S. 1993. Determination of the degree of N-deacetylation in chitin and
9. Chitosan as well as their monomer sugar ratios by near infrared spectroscopy. J Polym Sci Part A: Polym Chem 31(3): 749–753.
10. Wang, W., Qin, W., Li, S., and Bo, S. 1991. The molecular weight of chitin. Chinese J Appl Chem 8(6): 85–87.
11. Hiroshi, T. 1952. Method of colloid titration (a new titration between polymer ions). J Polym Sci 8(2): 243–253.
12. Wang, W., Li, S., and Qin, W. 1989. Colloid titration method to measure the amino concentration of chitosan. China Surf Detergent Cosmetics (2): 36–38.
13. Alonso, G., Penichi-Covas, C., and Nieto, J. M. 1983. Determination of the degree of acetylation of chitin and chitosan by thermal analysis. J Thermal Anal 28(1): 189–193.
14. Lal, G. S. and Hayes, E. R. 1984. Determination of the amine content of chitosan by pyrolysis–gas chromatography. J Anal Appl Pyrol 6(2): 183–193.
15. Moore, G. K. and Roberts, G. A. F. 1981. Reactions of chitosan: 3. Preparation and reactivity of Schiff's base derivatives of chitosan. Int J Biol Macromol 3(5): 337–341.
16. Peniston, Q. P. 1979. Process for activating chitin by microwave treatment and improved activated chitin product. US Patent 4159932.
17. Sannan, K. K. and Iwakura, Y. 1976. Studies on chitin, 2. Effect of deacetylation on solubility. Macromol Chem 177(12): 3589–3600.

18. CHITIN and CHITOSAN DERIVATIVES Advances in Drug Discovery and evelopments Edited by Se-Kwon Kim 21-22
19. CHITIN and CHITOSAN DERIVATIVES Advances in Drug Discovery and evelopments Edited by Se-Kwon Kim 26-27
20. C. A. Kienzle-Sterzer, D. Rodriguez-Sanchez and C. K. Rha, "Flow behavior of a cationic biopolymer: Chitosan", Polym. Bull., 1985, 13, 1-6.
21. W. Wang and D. Xu, "Viscosity and flow properties of concentrated solutions of chitosan with different degrees of deacetylation", Int. J. Biol. Macromol., 1994, 16, 149-152.
22. A. Martínez-Ruvalcaba, E. Chornet and D. Rodrigue, "Dynamic rheological properties of concentrated chitosan solutions", J. Text. Stud., 2004, 35, 53-74.
23. B. Nyström, A. Kjøniksen and C. Iversen, "Characterization of association phenomena in aqueous systems of chitosan of different hydrophobicity", Adv. Colloid Interface Sci., 1999, 79, 81-103.
24. J. K. Hwang and H. H. Shin, "Rheological properties of chitosan solutions", Korea-Australia Rheol. J.. 2000, 12, 175-179.
25. K. H. Bodek, "Study on the rheological properties of microcrystalline chitosan hydrogels used as drug carriers", Polimery, 2000, 45, 818-825.
26. C. Anchisi, A. M. Maccioni and M. C. Meloni, "Physical properties of chitosan dispersions in glycolic acid", Il Farmaco, 2004, 59, 557-561.
27. A. Montembaulta, C. Vitonb and A. Domard, "Rheometric study of the gelation of chitosan in a hydroalcoholic medium", Biomaterials, 2005, 26, 1633-1643.
28. M. Fernandez , C. V. Plessing and G. Cardenas, "Preparation and characterization of chitosan gels", J. Chil. Chem. Soc., 2006, 51, 1022-1024.
29. A. V. Mironov, G. A. Vikhoreva, N. R. Kil'deeva and S. A. Uspenskii, "Reasons for unstable viscous properties of chitosan solutions in acetic acid", Polym. Sci. Ser. B, 2007, 49, 15-17.
30. E. A. El-hefian, E. S. Elgannoudi, A. Mainal and A. Yahaya, "Characterization of chitosan in acetic acid: Rheological and thermal studies", Turk. J. Chem., 2010, 34, 47-56.
31. W. Argüelles–Monal, F. M. Goycoolea, C. Peniche and I. Higuera-Ciapara, "Rheological study of the chitosan/glutaraldehyde chemical gel system", Polym. Gels Networks, 1998, 6, 429-440.
32. M. J. Moura, M. M. Figueiredo and M. H. Gil, "Rheological study of genipin cross-linked chitosan hydrogels", Biomacromol., 2007, 8, 3823-3829.
33. Bodmeier R, Chen HG, Paeratakul A. A novel approach to the oral delivery of microor nanoparticles. Pharmaceutical Research 1989;6:413-7.
34. Calvo P, Remuñan-Lopez C, Vila-Jato JL, Alonso MJ. Novel hydrophilic chitosanpolyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. Journal of Applied Polymer Sciences 1997;63:125-32.
35. Bhattarai N, Gunn J, Zhang M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. Advanced Drug Delivery Reviews 2010;62:83-99.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

36. Zhang H, Oh M, Allen C, Kumacheva E. Monodisperse chitosan nanoparticles for mucosal drug delivery. Biomacromolecules 2004;5(6):2461-8.
37. Bonferoni MC, Sandri G, Rossi S, Ferrari F, Caramella C. Chitosan and its salts for mucosal and transmucosal delivery. Expert Opinion in Drug Delivery 2009;6(9):923-39.
38. Carvalho ELS, Grenha A, Remuñán-López C, Alonso MJ, Seijo B. Mucosal delivery of liposome-chitosan nanoparticle complexes. In: Düzgünes N, editor. Methods in Enzymology. Burlington: Academic Press; 2009. p. 289-312.
39. Agnihotri SA, Mallikarjuna NN, Aminabhavi TM. Recent advances in chitosan-based micro-and nanoparticles in drug delivery. Journal of Controlled Release 2004;100:5-28.
40. Tiyaboonchai W. Chitosan nanoparticles: a promising system for drug delivery. Naresuan University Journal 2003;11(3):51-66.
41. H.A. Barnes, J.E Hutton, K. Walters F. R. S. AN INTRODUCTION TO RHEOLOGY. University College of Wales, Aberystwyth, U.K.; 1993.
42. M. Kassai. Calculation of Mark-Houwink-Sakurada (MHS) equation visometric constants for chitosan in any solvent-temperature system using experimental reported viscometric constants data. Carbohidrate Polymers 68 (2007): 477-488.
43. R. Czechowska. Determination of Degree of Deacetylation of Chitosan-Comparision of Methods. Progress on Chemistry and Application of Chitin and its derivates. Volume XVII (2012): 5-20.
44. H. Lisboa. Morphological Characterization of Chitosan Liquid-Crystalline Solutions and Gels. [1] CertBio, Unidade Académica de Engenharia dos Materiais, Universidad Federal Campina Grande, Campina Grande, PB, Brasil.

Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa

ANEXO 3

CALCULO DEL VOLUMEN DE HCl PARA LA TITULACION ACIDO-BASE

Para determinar el DA se pesó 0,2g de CS seco, el cual fue disuelto en 20 ml de 0,1 M de HCl y 25 ml de agua destilada. Después de agitación continua por 30 minutos, se añade la próxima porción de agua destilada (25 ml) y se continúa agitando por 30 minutos más. Cuando el CS se disuelve completamente se titula con una solución 0,1 mol/dm3 de NaOH gota a gota.

Datos:

- Quitosano: 0,2g
- Volumen de agua destilada: 45ml
- Concentración de HCl: 0,1M
- Concentracion de NaOH: 0,1mol/dm3
- Pureza del HCl: 37%
- Masa molar: 36.46094
- Densidad HCl: 1,2 g/ml

Procedimiento:

1. Para ello recordemos que la molaridad de una disolución expresa la relación entre los moles de soluto y el volumen de disolución, es decir:

$$M = \frac{\text{moles de soluto}}{\text{volumen (L) de disolución}} = \frac{n_s}{V} \Rightarrow n_s = MV$$

Y sustituyendo los datos:

n_S = 0,1M x 0,045 L = 0,0045mol

Esa cantidad en moles debemos expresarla en gramos, para poder trabajar con magnitudes más familiares en el laboratorio, para ello recurrimos a la expresión:

$$n\,(\text{mol}) = \frac{m\,(\text{g})}{M\,(\text{g/mol})} \Rightarrow m\,(\text{g}) = n\,(\text{mol})\,M\,(\text{g/mol})$$

0,0045molx36.46094g/mol = 0,1642093g

Como esa cantidad de HCl tiene que obtenerse de una disolución comercial (riqueza 37 %), tendremos que calcular qué masa de ese reactivo contendrá esos 0,1642093g de HCl que precisamos:

$$\frac{100g\ de\ disolucion}{37\ g\ de\ HCl} = \frac{x\ g\ de\ disolucion}{0{,}1642093\text{g de HCl}}$$

$$x = 0{,}4438\ g\ de\ disolucon\ comercial$$

Al tratarse de un líquido, es más práctico calcular, a partir de ese dato, el volumen de disolución comercial que tendremos que emplear, haciendo uso de la densidad de la misma:

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow V = \frac{m}{\rho}$$

y sustituyendo los datos:

$$V = \frac{0{,}4438g}{1.2\ gr/cm3}$$

V = 0.37 ml de HCl en 45 ml de agua destilada