

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA

FACULTAD DE CIENCIAS



TESIS

**“MODIFICACIÓN QUÍMICA DEL ALGINATO CON
CISTEÍNA Y SU APLICACIÓN PARA LA REMOCIÓN DE
Pb (II) Y Cd (II) EN SOLUCIONES ACUOSAS”**

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIATURA EN QUÍMICA

ELABORADO POR:

HUAMANI PALOMINO, RONNY GENARO

ASESOR:

M. Sc. JACINTO HERNANDEZ, CHRISTIAN RONALD

LIMA – PERÚ

2017

Dedico este trabajo a mi familia, especialmente a mis padres por su enorme confianza, amor, y momentos especiales en mi memoria.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia, sobre todo a mi madre Paulina Palomino R. y a mi padre Genaro Huamani J. por su apoyo incondicional y comprensión durante estos años en la universidad, remarcando la confianza que han depositado en mí. A mis hermanos Elizabeth y Ronald por su apoyo constante, brindándome diversas experiencias y consejos.

Agradezco al equipo de trabajo del proyecto FINCyT dirigido por la Dr. Ana Valderrama Negrón que sin ella este trabajo no sería posible, ya que se contó con reactivos, materiales, equipos, etc, para el desarrollo de este trabajo y siendo parte este del proyecto “PREPARACIÓN Y EVALUACIÓN DE NUEVOS MATERIALES BIOPOLIMÉRICOS PARA LA REMOCIÓN DE METALES TÓXICOS PROVENIENTES DE LA INDUSTRIA MINERA”. Agradezco a mi asesor, el Mg. Christian Jacinto H. por su apoyo durante el desarrollo del trabajo, por su comprensión, paciencia y buena disposición.

Expreso mi enorme agradecimiento al personal de trabajo del laboratorio, a mis compañeros de laboratorio como a Bryan Córdova, compañero de viajes congresales, Samuel S., José Luís C., etc, con los cuales hemos compartido el ambiente de trabajo, experiencias en la universidad, conferencias y estadías en el extranjero. Así también a compañeros de otras especialidades como Luis C., Patrick V., Bruno R., Ronald B., al grupo Golden Science, y por supuesto al coro de la universidad, dirigido por los maestros, Rosa Chavarría y Luciano Garrido que me han sabido contribuir en una buena formación cultural y musical.

También quisiera expresar mi agradecimiento al Dr. Luis Demetrio Miranda y Dr. Braulio R. Molina profesores de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por la invitación a la pasantía en su laboratorio, para la realización de los análisis térmicos y espectroscópicos de RMN ^{13}C en estado sólido. Asimismo por su ayuda en la interpretación de resultados, sus consejos y amistad.

Agradezco a todas aquellas personas y seres queridos, que sin necesidad de dedicarse al ambiente de investigación me apoyaron desinteresadamente e incondicionalmente con las experiencias, consejos y tanto en lo emocional como en lo cognitivo.

A todos ustedes, muchas gracias de corazón...

RESUMEN

Actualmente, se buscan nuevas técnicas para la remoción de metales pesados en soluciones acuosas. Los biopolímeros han mostrado gran versatilidad en diversos campos de la química, incluyendo la ambiental, en donde se hace uso de hidrogeles, microesferas, compósitos de biopolímeros para la remoción de metales. En el presente trabajo se realizó la modificación química del alginato con cisteína para la remoción de Pb^{+2} y Cd^{+2} en solución acuosa. Se caracterizó el biopolímero de partida así como el modificado mediante técnicas de análisis térmico TGA/DSC, y por espectroscopia, FTIR, DRX y de RMN ^{13}C en estado sólido. Asimismo se preparó microesferas de alginato como material de referencia para la sorción. Los Ensayos de caracterización demuestran cada etapa de la modificación del alginato desde la oxidación (AlgO), aminación con cisteína (AlgS), y el producto de la sorción de Pb^{+2} con AlgS (AlgS- Pb^{+2}). El análisis espectroscópico FTIR muestra para el AlgS la presencia de picos característicos a (3335 cm^{-1} ν (N-H₂); 1675 cm^{-1} ν (C=N) y 1570 cm^{-1} ν (N-H)). En el análisis por RMN ^{13}C en estado sólido del modificado, tenemos los picos a $174.8\text{ ppm } \delta$ (COO^-) de la cisteína y $181,2\text{ ppm } \delta$ (COO^-) del alginato que indicarían los entornos químicos del alginato y la cisteína, así también la disminución de la intensidad de los picos de los grupos hemiacetales a $92,2\text{ ppm}$, los cuales participan en la aminación y consecuentemente la aparición del entorno químico de la cisteína. Las microesferas de alginato muestran sus propiedades como intercambiador iónico de Pb^{+2} y Cd^{+2} observados en la respuesta del SEM y A. Atómica obteniéndose para este último un Q_{max} de 30 mg/g y 7 mg/g tanto para Pb^{+2} y Cd^{+2} . Mientras que para el material modificado la sorción de Pb^{+2} muestra resultados favorables a diferencia de las microesferas, logrando obtener un Q_{max} de 770 mg/g para el Pb^{+2} y 160 mg/g para el Cd^{+2} . Además estos análisis se ajustan a un modelo tipo Langmuir que indica una quimisorción debido a la interacción de los grupos tioles y carboxilatos presentes en la cisteína, con los iones de Pb^{+2} y también para iones Cd^{+2} . En conclusión se logró obtener un nuevo material, haciendo uso de la modificación química y así brindarle la capacidad de atrapar metales como Pb^{+2} y Cd^{+2} en medio acuoso, gracias a los nuevos grupos funcionales que este pueda presentar en su red polimérica.

LISTA DE ABREVIATURAS

M	Grupo manurónico.
G	Grupo gulurónico.
F_G, F_M, F_{GM}, F_{MM}	Fracción mol asociado a las señales pico del análisis RMN.
F_{MG} y F_{GG}	
MM	Diada Manurónico – Manurónico.
GG	Diada Gulurónico – Gulurónico.
MG	Diada Gulurónico – Manurónico.
TBA	Tetrabutylamonio.
DMSO/TBAF	Dimetilsulfoxido/Fluoruro de tetrabutylamonio.
DCC	Diciclohexilcarbodiimida.
DIC	Diisopropilcarbodiimida.
EDC	1-Etil-3-(3'-dimetilaminopropil) carbodiimida.
[O]	Agente oxidante.
Q_{max}	Capacidad de retención.
CI	Coefficiente intelectual.
RMN	Resonancia magnética nuclear.
RMN ¹³C	Resonancia magnética nuclear de ¹³ C
RMN ¹H	Resonancia magnética nuclear de ¹ H
MAS	Ángulo mágico.
CP	Polarización cruzada.
Ppm	Partes por millón.
K₁	Constante de Huggings.
K₂	Constante de Kraemer.
K_{sb}	Constante de Schulz – Blaschke.
SVLV	Sargassum vulgare de baja viscosidad
SVHV	Sargassum vulgare de alta viscosidad
TGA	Análisis termogravimétrico.
DSC	Calorimetria diferencial de barrido.
λ	Longitud de Onda.
AlgO	Alginato oxidado.
AlgS	Alginato modificado con cisteína.
FTIR	Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier.

DRX	Difracción de rayos X.
Kα, Kβ	Radiación.
SEM	Microscopia electrónica de barrido.
<i>n</i>	Viscosidad.
<i>n_p</i>	Viscosidad del polímero.
<i>n_s</i>	Viscosidad de la solución.
<i>n_{sp}</i>	Viscosidad específica.
<i>n_r</i>	Viscosidad relativa.
<i>n_{red}</i>	Viscosidad reducida.
% G.O	Grado de oxidación
XPS	Espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X
Pb⁺²	Ión de Plomo.
Cd⁺²	Ión de Cadmio.
[c],C	Concentración.
Ce	Concentracion en equilibrio una vez ya dada la sorción.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN -----	1
II.	OBJETIVOS -----	2
III.	FUNDAMENTO TEÓRICO -----	4
1.	ALGINATO: COMPOSICIÓN QUÍMICA, PROPIEDADES FISCOQUÍMICAS Y APLICACIONES -----	5
1.1.	Composición química -----	7
1.2.	Propiedades fisicoquímicas -----	8
1.2.1.	Propiedades físicas -----	8
1.2.2.	Propiedades químicas -----	11
1.3.	Aplicaciones -----	12
2.	HIDROGELES DE ALGINATO -----	13
2.1.	Definición -----	13
2.2.	Formación de microesferas de alginato -----	13
3.	MODIFICACIONES QUÍMICAS DEL ALGINATO -----	15
3.1.	Modificación de los grupos hidroxilos -----	15
3.1.1.	Oxidación -----	15
3.1.2.	Aminación reductora del alginato -----	17
3.1.3.	Sulfonación -----	18
3.1.4.	Copolimerización -----	18
3.2.	Modificación de los carboxilatos -----	19
3.2.1.	Esterificación -----	19
3.2.2.	Amidación -----	19
4.	POLÍMEROS TIOLADOS -----	23
5.	SORCIÓN -----	25
5.1.	Algunos materiales utilizados -----	25
5.2.	Modelo teórico aplicado a la sorción -----	30
5.2.1.	Modelo de langmuir -----	30
5.2.2.	Modelo freundilich -----	31
6.	CARACTERIZACIÓN DE BIOPOLIMEROS -----	32
6.1.	Resonancia magnética nuclear (RMN) -----	32
6.2.	Espectroscopía infrarroja con transformada de fourier (FTIR) -----	36
6.2.1.	Reflectancia total atenuada -----	37
6.2.2.	Reflectancia especular -----	37
6.2.3.	Reflectancia difusa -----	37
6.3.	Viscosimetría -----	38
6.4.	Análisis térmico -----	41
6.4.1.	Calorimetría diferencial de barrido (DSC) -----	41

6.4.2. Análisis termogravimétrico (TGA)-----	41
6.5. Difracción de rayos X (DRX) -----	42
6.6. Microscopía electrónica de barrido (SEM) -----	42
IV. PARTE EXPERIMENTAL -----	43
1. REACTIVOS-----	44
2. EQUIPOS -----	45
3. MODIFICACIÓN DEL ALGINATO -----	45
3.1. Microesferas de alginato -----	45
3.1.1. Elaboración de las microesfera-----	45
3.1.2. Determinación de la humedad de las microesferas -----	45
3.2. Oxidación del alginato (AlgO) -----	45
3.3. Modificación química con cisteína (AlgS)-----	46
4. SORCIÓN-----	46
4.1. Pruebas de sorción de Pb ⁺² -----	46
4.2. Pruebas de sorción de Cd ⁺² -----	47
5. CARACTERIZACIÓN-----	47
5.1. Determinación del peso molecular-----	47
5.1.1. Preparación de soluciones -----	47
5.1.2. Determinación de la viscosidad intrínseca-----	48
5.2. Espectroscopía infrarrojo (FTIR) -----	48
5.3. Difracción de rayos X (DRX) -----	48
5.4. Análisis térmico (TGA/DSC)-----	48
5.5. Análisis termogravimétrico (TGA) -----	48
5.6. Estudios de morfología (SEM) -----	48
5.7. Análisis estructural (RMN ¹³ C en estado sólido) -----	49
V. RESULTADOS Y DISCUSIONES -----	50
1. CARACTERIZACIÓN DEL ALGINATO DE PARTIDA -----	51
1.1. Determinación del peso molecular-----	51
1.2. Espectroscopía infrarrojo-----	53
1.3. Difracción de rayos X -----	55
1.4. Análisis térmico (TGA/DSC)-----	56
1.5. Resonancia magnética nuclear ¹³ C en estado sólido (RMN ¹³ C) -----	58
2. CARACTERIZACIÓN DE LAS MICROESFERAS -----	60
2.1. Difracción de rayos X -----	60
2.2. Análisis termogravimétrico (TGA) -----	61
2.3. Estudio morfológico de las microesferas de alginato por microscopía electrónica de barrido (SEM)-----	62

3.	MODIFICACIÓN QUÍMICA DEL ALGINATO	66
3.1.	Oxidación del alginato (AlgO)	66
3.1.1.	Caracterización del alginato oxidado	68
3.1.1.1.	Espectroscopia infrarrojo	69
3.1.1.2.	Análisis termico (TGA/DSC)	70
3.1.1.3.	Resonancia magnética nuclear ^{13}C en estado sólido (RMN ^{13}C)	71
3.2.	Modificación química con cisteína	73
3.2.1.	Caracterización de la cisteína	74
3.2.1.1.	Espectroscopía FTIR	74
3.2.1.2.	Determinación del punto isoeléctrico (P.I)	76
3.2.2.	Caracterización del alginato modificado	77
3.2.2.1.	Espectroscopia FTIR	77
3.2.2.2.	Análisis termico (TGA/DSC)	79
3.2.2.3.	Resonancia magnetica nuclear ^{13}C en estado sólido (RMN ^{13}C)	81
3.3.	Producto de la sorción de Pb^{+2} con alginato modificado con cisteína (AlgS – Pb^{+2})	86
3.3.1.	Caracterización	86
3.3.1.1.	Análisis termico (TGA/DSC)	86
3.3.1.2.	Resonancia magnetica nuclear ^{13}C en estado sólido (RMN ^{13}C)	88
4.	SORCIÓN	92
4.1.	Microesferas	92
4.1.1.	Obtención de microesferas	92
4.1.2.	% de humedad	92
4.1.3.	Sorción de Pb^{+2}	93
4.1.4.	Sorción de Cd^{+2}	96
4.2.	Alginato modificado con cisteína (AlgS)	99
4.2.1.	Sorción de Pb^{+2}	99
4.2.2.	Sorción de Cd^{+2}	103
VI.	CONCLUSIONES	107
VII.	RECOMENDACIONES	109
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura.III.1. Laminaria Hyperborea.	6
Figura.III.2. Lessonia Nigrescen.	6
Figura.III.3. Estructura química del alginato y sus 2 componentes monoméricas. (a) Grupo Manurónico (M), (b) Grupo Gulurónico (G) del alginato de sodio. (c) Composición del alginato con bloques G, Bloques M y Bloques MG, GM.	8
Figura.III.4. Modificación química de Alginato/TBA en medio DMSO/TBAF.	9
Figura.III.5. Posibles puntos de unión del alginato. (a) Uniones GG/GG, (b) Uniones MG/MG, (c) Uniones GG/MG.	10
Figura.III.6. Degradación del alginato por hidrólisis ácida.	11
Figura.III.7. Ajuste de difusión y el método de gelación interna.	15
Figura.III.8. Oxidación del Alginato.	16
Figura.III.9. Hemiacetales del C ₂ y C ₃ del alginato de sodio.	17
Figura.III.10. Aminación reductora del alginato oxidado.	18
Figura.III.11. Modificación del alginato con HSO ₃ Cl.	18
Figura.III.12. Copolimerización del alginato.	19
Figura.III.13. Reacción de esterificación.	19
Figura.III.14. Reacción carbodiimida en solventes orgánicos.	20
Figura.III.15. Carbodiimidas, sales de fosfonio y uronio.	20
Figura.III.16. Tenemos DCC, EDC, DIC respectivamente.	21
Figura.III.17. Tenemos HOSu, HOBT, HOAt y HOOBT respectivamente.	21
Figura.III.18. Mecanismo de acoplamiento con carbodiimidas.	22
Figura.III.19. Formación de los puentes disulfuro.	23
Figura.III.20. Modelo biológico del plomo.	28
Figura.III.21. Diagrama de Pourbaix para el plomo Pb ⁺²	28
Figura.III.22. Diagrama de Pourbaix para el plomo Cd ⁺²	30
Figura.III.23. Efecto del ángulo mágico (MAS), polarización cruzada (CP) y desacoplamiento en el RMN ¹³ C en estado sólido de la glicina.	34
Figura.III.24. Estructura del alginato con cada carbono enumerado.	35
Figura.III.25. RMN ¹³ C en estado sólido con CP- MAS de alginato de sodio (a) 35 %, (b) 65 % y (c) 100 % manurónico.	35
Figura.III.26. Espectro FTIR del Alginato de sodio.	38
Figura.III.27. Representación de Huggins.	40
Figura.IV.1. Microesferas al 2,5 % de alginato de bureta y jeringa.	49
Figura.V.1. Microfotografías de las microesferas de alginato sin Pb ⁺² (500 μm-10 μm).	63
Figura.V.2. Microfotografías de las microesferas de alginato sin Pb ⁺² (5 μm-2 μm).	64
Figura.V.3. Microfotografías de las perlas de alginato con Pb ⁺² (500μm).	64
Figura.V.4. Microfotografías de las perlas de alginato con Pb ⁺² (50μm-2μm).	65
Figura.V.5. AlgO sintetizado.	68
Figura.V.6. Síntesis del AlgS.	68
Figura.V.7. Propuesta del alginato modificado con cisteína (AlgS).	76
Figura.V.8. (A) Estructura de la cisteína ionizada, (B) Estructura ionizada de la cistina.	84
Figura.V.9. Reacción de maillard por etapas.	84
Figura.V.10. Reacción de racemización de la cisteína.	84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla.III.1. Fuentes de alginato con su composición y secuencia.....	7
Tabla.III.2. Solubilidad del alginato en diferentes solventes a una concentración de 15mg/mL. (+) Completamente soluble, (-) Parcialmente o no soluble.....	9
Tabla.III.3. Principales funciones del alginato como aditivo en alimentos.....	12
Tabla.III.4. Valores de pKa de Aminoácidos.	24
Tabla.III.5. Técnicas para la sorción de metales pesados.....	26
Tabla.III.6. Valores promedio de Q max (mmol/g) de iones metálicos en alga.....	26
Tabla.III.7. Qmax (mmol/g) de diferentes Materiales.	27
Tabla.III.8. Influencia del pH en la eficiencia de sorción (SE) y capacidad de sorción (SC) de plomo (Pb ⁺² mg/g).....	29
Tabla.III.9. Asignación de los espectros RMN ¹³ C CP- MAS de la Figura.III.25.	36
Tabla.III.10. Valores de las viscosidades intrínsecas y de los parámetros Mark – Houwink – Sakurada, para diferentes tipos de alginato	40
Tabla.V.1. Tiempos obtenidos a diferentes concentraciones.....	51
Tabla.V.2. Viscosidad a diferentes concentraciones.....	51
Tabla.V.3. Grupos funcionales presentes en el alginato.	54
Tabla.V.4. Asignación de los espectros RMN ¹³ C en estado sólido del Gráfico.V.7.	59
Tabla.V.5. Desplazamientos de ¹³ C RMN del Gráfico.V.14.	72
Tabla.V.6. Grupos funcionales con sus respectivas vibraciones.....	75
Tabla.V.7. Grupos funcionales con sus respectivas vibraciones del AlgS.....	78
Tabla.V.8. Solubilidad del AlgS.	83
Tabla.V.9. % de humedad a diferentes concentraciones de las microesferas.....	93
Tabla.V.10. Modelos de sorción.....	96
Tabla.V.11. Modelos de sorción.....	99
Tabla.V.12. Modelos de sorción.....	102
Tabla.V.13. Modelos de sorción.....	105
Tabla.V.14. Resultados de la sorción.....	106

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación.III.1. Reacción de oximación.....	17
Ecuación.III.2. Proceso de oxidación de tioles por acción del yodo.....	24
Ecuación.III.3. Viscosidades	39
Ecuación.III.4. Ecuaciones que relacionan a la viscosidad intrínseca.....	39
Ecuación.V.1. Determinación del grado de oxidación.....	67
Ecuación.V.2. Reacción de reducción del yodato.....	68
Ecuación.V.3. Reacción de ionización de la cisteína.....	77
Ecuación.V.4. Reacción de la formación de imínas	85

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico.V.1. Recta de Huggins del alginato de partida.....	52
Gráfico.V.2. Espectro FTIR del alginato de sodio.....	54
Gráfico.V.3. Difracción de rayos X del alginato de partida.....	55
Gráfico.V.4. Difracción de rayos X del alginato, celulosa y del quitosano.....	56
Gráfico.V.5. Análisis TGA del alginato de sodio.....	57
Gráfico.V.6. Análisis DSC del alginato de sodio.....	58
Gráfico.V.7. Análisis RMN ¹³ C en estado sólido del alginato de sodio.....	58
Gráfico.V.8. Comparación de los difractogramas del alginato, alginato de partida, microesferas sin Pb ⁺² y microesferas con Pb ⁺²	60
Gráfico.V.9. Análisis térmico del alginato entrecruzado.....	61
Gráfico.V.10. Análisis potenciométrico.....	67
Gráfico.V.11. Espectro FTIR por el método ATR del AlgO.....	69
Gráfico.V.12. Análisis TGA del AlgO.....	70
Gráfico.V.13. Análisis DSC del AlgO.....	71
Gráfico.V.14. Análisis de RMN ¹³ C en estado sólido del AlgO.....	72
Gráfico.V.15. Espectro FTIR de la cisteína.....	75
Gráfico.V.16. P.I de la cisteína.....	76
Gráfico.V.17. Comparación de los espectros FTIR de la cisteína, AlgS, AlgO y del alginato.....	78
Gráfico.V.18. Análisis TGA del AlgS.....	79
Gráfico.V.19. Análisis DSC del AlgS.....	80
Gráfico.V.20. Termogramas de DSC/TGA del AlgS.....	81
Gráfico.V.21. Análisis de RMN ¹³ C en estado sólido del AlgS.....	82
Gráfico.V.22. Análisis TGA del AlgS – Pb ⁺²	87
Gráfico.V.23. Análisis DSC del AlgS – Pb ⁺²	88
Gráfico.V.24. Análisis RMN ¹³ C en estado sólido del AlgS – Pb ⁺²	89
Gráfico.V.25. Análisis RMN ¹³ C en estado sólido comparando el alginato de partida (1), AlgO (2), AlgS (3), AlgS – Pb ⁺² (4).....	90
Gráfico.V.26. Análisis DRX tanto para el alginato de partida, AlgS y Alg - Pb ⁺²	91
Gráfico.V.27. Isoterma de sorción de Pb ⁺² con microesferas de alginato.....	94
Gráfico.V.28. Ajuste al modelo de Langmuir (sorción de Pb ⁺² por microesferas).....	94

Gráfico.V.29. Ajuste al modelo de Freundlich (Sorción de Pb^{+2} por microesferas)	95
Gráfico.V.30. Isoterma de sorción de Cd^{+2} con microesferas de alginato.....	97
Gráfico.V.31. Ajuste al modelo de Langmuir (Sorción de Cd^{+2} por microesferas)	97
Gráfico.V.32. Ajuste al modelo de Freundlich (Sorción de Cd^{+2} por microesferas).....	98
Gráfico.V.33. % Remoción vs pH.....	99
Gráfico.V.34. Isoterma de sorción de Pb^{+2} con AlgS.....	100
Gráfico.V.35. Modelo de Langmuir	101
Gráfico.V.36. Modelo de Freundlich	101
Gráfico.V.37. Isoterma de sorción de Cd^{+2} con AlgS	103
Gráfico.V.38. Ajuste al modelo de Langmuir	104
Gráfico.V.39. Ajuste al modelo de Freundlich.....	104

I. INTRODUCCIÓN

La contaminación del agua sin lugar a duda es uno de los problemas más preocupantes en la actualidad. Los contaminantes más perjudiciales vienen siendo los residuos no biodegradables que interfieren en el desarrollo de los medios naturales y en la salud pública. Asimismo su amenaza se multiplica por su acumulación a través de la cadena alimenticia. Los focos de contaminación de metales tóxicos proceden de la industria minera, de recubrimientos metálicos, fundidoras, y su peligrosidad reside en que no pueden ser degradados (ni química, ni biológicamente). Actualmente, el Perú es un país beneficiado por la explotación minera, por ende está expuesto a la contaminación ambiental producida por esta.

Los restos, efluentes o depósitos de residuos producidos por la explotación minera, presentan un riesgo permanente para el ecosistema circundante, ya que por su falta de control y recursos, estos desembocan en lagunas, ríos, etc, afectando no solamente a los mantos acuíferos sino también a las plantas, cultivos, bioacumulándose en estas y llegando a nosotros de manera indirecta. Por ende la minería (en casos más graves, la ilegal) en su accionar altera los niveles estándares, y en muchos de los casos eleva los niveles admisibles desencadenando así daños irreversibles.

Hoy en día se conocen diferentes técnicas para la remoción de metales pesados en aguas, como la precipitación, floculación, separación mediante membranas, entre otras, asimismo cada una de estas técnicas son más costosas entre una y otra, dependiendo del material con el que se trabaje.

A esto la sorción con derivados de fuentes naturales, ha demostrado ser eficiente y ventajosa, los materiales utilizados no son muy caros y son amigables con el medio ambiente. En este trabajo teniendo como precedente la eficiente sorción de metales con materiales derivados de fuentes naturales, se trabajará con el alginato de sodio y se le brindará una mayor capacidad de sorción, por medio de agentes modificantes. Esta investigación forma parte del proyecto “PREPARACIÓN Y EVALUACIÓN DE NUEVOS MATERIALES BIOPOLIMÉRICOS PARA LA REMOCIÓN DE METALES TÓXICOS PROVENIENTES DE LA INDUSTRIA MINERA” presentando como objetivo, la preparación de nuevos materiales biopoliméricos con capacidad mejorada de sorción de metales tóxicos (Pb, Cd, Hg, Cr y As) provenientes de efluentes minero-metalúrgicos.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Modificación química del alginato con cisteína y evaluación de la sorción de Pb^{+2} y Cd^{+2} .

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterización fisicoquímica del alginato de partida, alginato oxidado y el alginato modificado con cisteína.
- Obtención, caracterización de microesferas de alginato y evaluación de la capacidad de sorción de Pb^{+2} y Cd^{+2} con microesferas de alginato.
- Oxidación del alginato con peryodato de sodio y aminación de este con cisteína.
- Evaluación de sorción del Pb^{+2} y Cd^{+2} con el alginato modificado con cisteína, y conocer qué modelo se ajusta para cada metal.

III. FUNDAMENTO TEÓRICO

1. ALGINATO: COMPOSICIÓN QUÍMICA, PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y APLICACIONES

‘Alginato’ es un término colectivo para asignar a una familia de polisacáridos producidos por las algas pardas y bacterias ^[1]. En 1881 – 1883 se descubrió el ácido algínico, por Stanford siendo, extraído y patentado ^[2]. En 1926 Atsuki y Tomoda descubrieron la presencia de ácidos urónicos en el ácido algínico, años posteriores se encontró que el ácido algínico solo presentaba grupos D – manurónico (M) en su estructura. En 1955 Fisher y Dörfel destruyeron el modelo anterior de la estructura del alginato ya que descubrieron la presencia de grupos L – Gulurónico (G) asimismo desarrollaron un método para la cuantificación de grupos G y M. Continuamente se encontraron nuevos descubrimientos respecto a la estructura del alginato como los enlaces de unión de los grupos urónicos, métodos defraccionamiento de alginato, la naturaleza copolimérica estadística, formas de elucidación de la secuencia, etc. ^[3]

La función principal del alginato en el alga se cree que es la de soporte (como un esqueleto), el cual brinda rigidez y flexibilidad muy similar a las propiedades que brinda la celulosa a las plantas terrestres. ^[4] Además el alginato actúa como reservorio de agua previniendo la deshidratación de las algas.

Por lo general los alginatos disponibles comercialmente son extraídos de algas pardas principalmente de *Laminaria hyperborea*, *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria japonica*, *Ecklonia maxima*, *Lessonia nigrescens*, y *Durvillaea antártica*. Otra fuente de extracción del alginato son las bacterias de tierra, como *Ascophyllum nodosum*.



Figura.III.1. Laminaria Hyperborea. ^[5]



Figura.III.2. Lessonia Nigrescen. ^[6]

Tabla.III.1. Fuentes de alginato con su composición y secuencia ^[3]

Fuente	F_G	F_M	F_{GG}	F_{MM}	F_{GM,MG}
<i>Laminaria longicruris</i>	0,33	0,67	0,23	0,57	0,10
<i>L. japonica</i>	0,35	0,65	0,18	0,48	0,17
<i>L. digitata</i>	0,41	0,59	0,25	0,43	0,16
<i>L. saccharina</i>					
New blade	0,35	0,65	0,25	0,55	0,10
Old blade	0,46	0,54	0,32	0,40	0,14
<i>L. brasiliensis</i>					
Blade	0,53	0,47	0,33	0,27	0,20
Stipe	0,54	0,46	0,31	0,23	0,23
<i>L. hyperborea</i>					
Blade	0,55	0,45	0,38	0,28	0,17
Stipe	0,68	0,32	0,56	0,20	0,12
<i>Outer cortex</i>	0,75	0,25	0,66	0,16	0,09
<i>Saccorhiza polyschides</i>					
Blade	0,58	0,42	0,46	0,30	0,12
Stipe	0,49	0,51	0,34	0,36	0,15
<i>Lessonia nigrescens</i>	0,38	0,62	0,19	0,43	0,19
<i>Ecklonia máxima</i>	0,45	0,55	0,22	0,32	0,32
<i>Macrosystis pyrifera</i>	0,39	0,61	0,16	0,38	0,23
<i>Ascophyllum nodosum</i>					
Fruiting Body	0,10	0,90	0,04	0,84	0,06
Old tissue	0,36	0,64	0,16	0,44	0,20

La composición del alginato en diferentes algas marinas varía de acuerdo con las condiciones estacionales y de crecimiento.

La producción industrial anual mundial del alginato se estima en 30 000 toneladas métricas, que es probablemente menos del 10 % de material biosintetizado de cultivos de macroalgas. Esto nos permite considerar al polisacárido como un recurso ilimitado y renovable, inclusive para la industria en constante crecimiento ^[7].

Las principales aplicaciones industriales del alginato se aprovechan gracias a sus propiedades de gelificación y capacidad de retención de agua.

1.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA

El alginato se describe como un copolímero lineal binario el cual presenta grupos M y G (manurónicos y gulurónicos respectivamente) dispuesto de manera desordenada, interpretándose como un polímero estadístico. Los enlaces glucosídicos unen los grupos M y G.

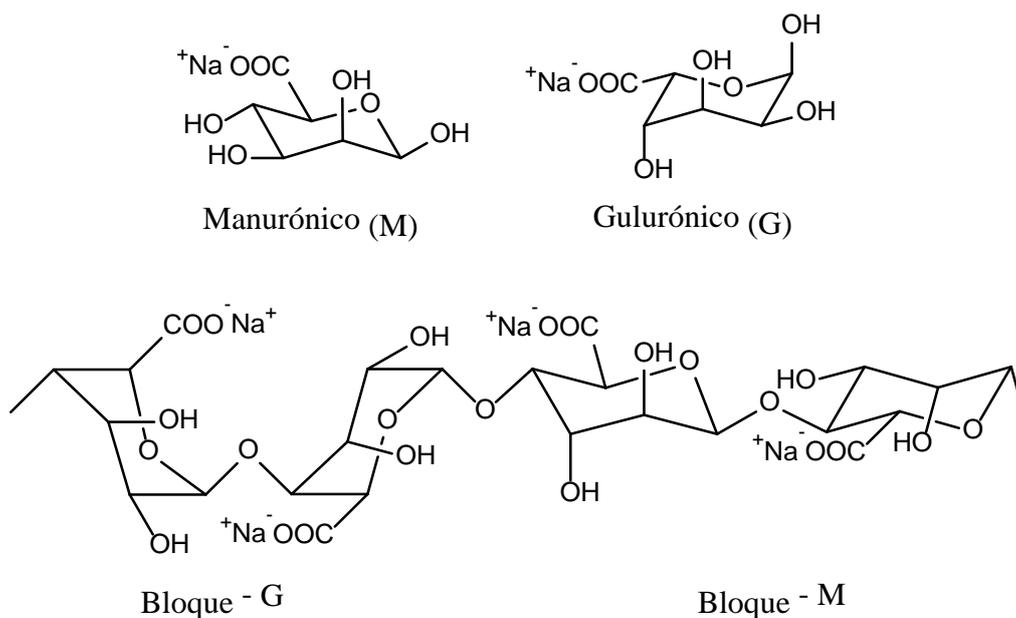


Figura.III.3. Estructura química del alginato y sus 2 componentes monoméricas. (a) Grupo Manurónico (M), (b) Grupo Gulurónico (G) del alginato de sodio. (c) Composición del alginato con bloques G, Bloques M y Bloques MG, GM. ^[3]

De la **Figura.III.3.** Podemos indicar que los alginatos están conformados por dos unidades monoméricas el ácido β - D - Manurónico (M) y el ácido α - L - Gulurónico (G), agrupándose en bloques: MM, MG unidas por enlaces glucosídicos β (1-4) y GG, GM unidas por enlaces glucosídicos α (1-4).

1.2. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

1.2.1. PROPIEDADES FÍSICAS

- Solubilidad: La solubilidad del alginato se rige por tres parámetros: ^[8]
 - a) **pH del disolvente.** Para hacer alginatos solubles el pH del medio es importante debido a las cargas electrostáticas presentes en los ácidos urónicos.
 - b) **Fuerza iónica del medio.** El cambio de la fuerza iónica del medio afecta a las propiedades de la solución tales como la conformación del polímero, la extensión de la cadena, la viscosidad y por ende la solubilidad.
 - c) **Presencia de iones de gelificantes en el medio.** Los geles de alginato se forman en presencia de cationes divalentes como Ca^{+2} , Sr^{+2} y Ba^{+2} . Por ende

es necesario disponer de una solución libre de solventes de reticulación para permitir la disolución.

La solubilidad en medio orgánico requiere el entrecruzamiento con TBA (Sal de tetrabutilamonio). Hace unos años se ha informado de la disolución completa de TBA/Alginato en disolventes apróticos polares que contienen fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF). [8, 9]

Tabla.III.2. Solubilidad del alginato en diferentes solventes a una concentración de 15mg/mL. (+) Completamente soluble, (-) Parcialmente o no soluble [9]

Compuesto	H ₂ O	Etanol	DMAc	DMF	DMSO	DMAc/LiCl	DMF/TBAF	DMSO/TBAF
Ac. Algínico	-	-	-	-	-	-	-	-
Na - Alginato	+	-	-	-	-	-	-	-
TBA - Alginato	+	+	-	-	-	-	+	+

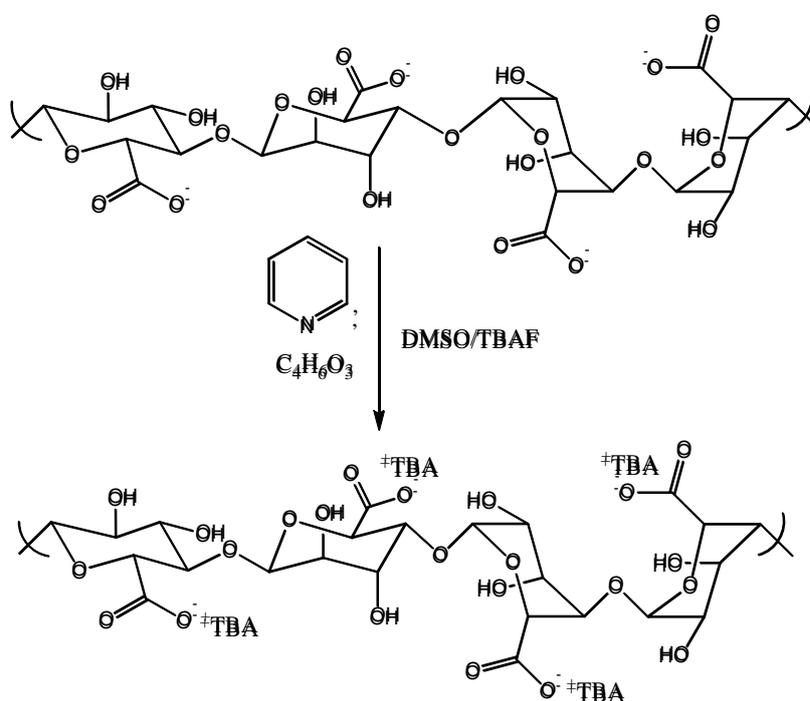
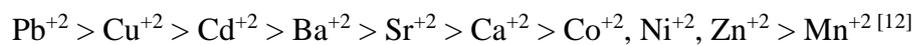


Figura.III.4. Modificación química de Alginato/TBA en medio DMSO/TBAF. [9]

- **Reticulación iónica**

La formación de geles se debe a las interacciones de los bloques G los cuales forman uniones firmemente en presencia de cationes divalentes, también pueden participar los otros bloques tanto GM, MM y MG (**Figura.III.5**) pero las uniones son débiles ^[10]. Así los alginatos con alto contenido de grupos gulurónicos (G) producen geles más resistentes, además por el tipo de unión que conforman los bloques (G) permiten una mayor rigidez y una menor susceptibilidad en las rupturas de los enlaces glucosídicos. ^[11]

La afinidad del alginato frente a los iones divalentes disminuye siguiendo el orden:



El ión Ca^{+2} es comúnmente utilizado para inducir la formación del gel de alginato. Las tres posibles interacciones se observan en la **Figura.III.5**.

La reticulación se puede realizar por dos métodos. El primero es un método por difusión en el que los iones de reticulación se difunden en la solución de alginato desde una deposición externa. El segundo es un método por “ajuste interno”, donde la fuente de iones se encuentra en la solución de alginato y requiere un disipador controlado que típicamente puede ser de pH o de solubilidad de la fuente de iones, poniendo así en marcha la liberación de iones de reticulación en solución. ^[8]

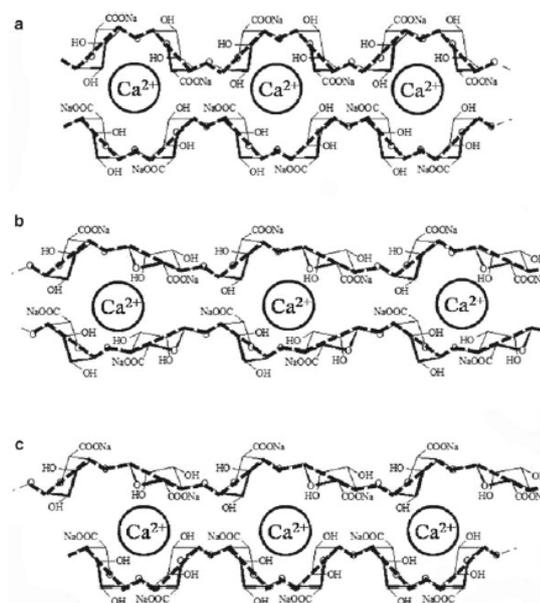


Figura.III.5. Posibles puntos de unión del alginato. (a) Uniones GG/GG, (b) Uniones MG/MG, (c) Uniones GG/MG. ^[10]

1.2.2. PROPIEDADES QUÍMICAS

Los polisacáridos por lo general se hidrolizan. El mecanismo de la hidrólisis ácida del enlace glucósido (ó glicosídico) consta de tres pasos: (1) protonación del oxígeno glucosídico para dar el ácido conjugado; (2) heterólisis del ácido conjugado formando un grupo no reductor; (3) la adición rápida de agua a los iones carbo-oxonio y la formación de un grupo extremo reductor. [8]

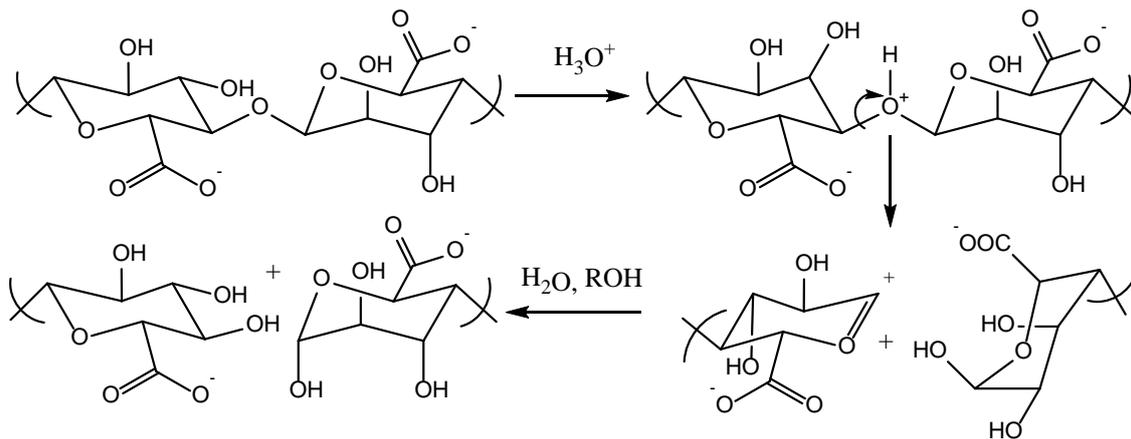


Figura.III.6. Degradación del alginato por hidrólisis ácida. [13]

El alginato de sodio en forma de polvo seco se puede almacenar sin degradarse en un lugar fresco, seco y alejado de la luz solar durante varios meses. El ácido algínico se degrada más rápido que la forma de sal de sodio. La razón de esta tasa de degradación mejorada se cree que es la catálisis intramolecular por los grupos carboxilo C_5 [14]. Otra ruta de degradación es cuando se somete al alginato a ambientes fuertemente alcalinos.

La tasa de aumento de la degradación se da por encima pH 10 y por debajo de pH 5. La degradación surge fundamentalmente por el mecanismo de eliminación a un pH alto mientras que por debajo de 5 la degradación es principalmente dada por hidrólisis ácida. [15]

No sólo el alginato se degrada en presencia de ácidos o bases, sino también a valores de pH neutro en presencia de compuestos reductores. Los que son derivados de las algas presentan cantidades variables de grupos fenólicos, esto depende mucho del tipo de alga.

Otros causantes de la degradación del alginato pueden ser las técnicas de esterilización tales como el tratamiento térmico, tratamiento en autoclave, tratamiento con óxido de etileno y la irradiación. ^[16]

1.3. APLICACIONES

Los alginatos desempeñan un papel muy importante en nuestra vida diaria pues constantemente los ingerimos en diferentes alimentos y los usamos en una gran variedad de productos cosméticos. Además tienen numerosas aplicaciones en el campo de la medicina, industria farmacéutica, etc. Por ejemplo, son usados para hacer impresiones dentales (alginato de calcio) y como excipientes de medicinas que deben ser lentamente absorbidas por el cuerpo. También son usados para emulsionar fármacos y complementos vitamínicos.

Las cápsulas que tomamos con mediciones y vitaminas están hechas de alginato. Pero no sólo los alginatos se usan con fines médicos, pues por sus propiedades coloidales y no tóxicas estos se usan ampliamente en la industria alimentaria. ^[3]

Tabla.III.3. Principales funciones del alginato como aditivo en alimentos ^[3]

Producto	Espesante	Emulsificante/Estabilizador	Aglutinante
Helado de crema	X		
Sopas preparadas	X		
Salsas	X	X	
Apositos	X	X	
Ketchup	X		
Mayonesa	X		
Margarina	X		
Milkshakes	X		
Jugo de frutas	X		
Licores	X		
Postres		X	X
Jarabes		X	
Mermeladas			X
Pudins			X
Relleno del pie			X
Pure de papas			X

Podemos encontrarlos en lápices labiales, barnices para uñas, cremas de rasurar, shampoo y cremas para el cuerpo. Se usan también como emulsionantes de las pinturas y en el vidriado del barro y barnizado de cerámica. Son parte importante en el proceso de estabilización del látex, la elaboración de papel y ceras pulidoras.

El alginato sódico ha sido usado como medio inmovilizador de enzimas, como coagulante en el tratamiento de aguas.

Recientemente se están aprovechando las propiedades del alginato como material reticulado, presentando estos materiales capacidad de retención de metales pesados. [18]

2. HIDROGELES DE ALGINATO

2.1. DEFINICIÓN

Los hidrogeles son materiales poliméricos entrecruzados en forma de red tridimensional que pueden obtenerse de polímeros naturales o sintéticos a través de diferentes métodos, y de estos existen diferentes tipos de hidrogeles como: [17]

- Hidrogeles físicos o reversibles: Se dan cuando existe enredamientos moleculares y/o interacciones fisicoquímicas secundarias como: interacciones hidrófobas, condensación de cargas, enlaces de hidrógeno, estereoacomplejamientos, o química supramolecular.
- Hidrogeles químicos o permanentes: Consiste en redes entrecruzadas covalentemente. Dentro de este tipo, tenemos a los hidrogeles obtenidos por radiación, este método utiliza la emisión de electrones, rayos gamma, rayos X o luz ultravioleta para excitar el polímero y producir la estructura entrecruzada.

2.2. FORMACIÓN DE MICROESFERAS DE ALGINATO

Las microesferas de alginato se pueden preparar por reticulación química y/o física de las cadenas del polímero. Las propiedades fisicoquímicas de los geles de alginato son dependientes del tipo de reticulación, densidad de reticulación, el peso molecular y la composición del alginato. [18]

El método más común para la formación de geles de alginato con geometría definida (microesferas) es por reticulación iónica con cationes multivalentes. La gelificación de alginato se produce por un intercambio de iones de sodio de los bloques con cationes

multivalentes de ácido gulurónico (G) y el apilamiento de estos bloques G para formar una estructura característica tipo “Caja de Huevos”. Estos geles pueden presentar 95 % de agua.

La gelificación puede ocurrir a partir de los métodos: ^[19]

- Gelificación externa, en este método por lo general se gotea una solución de alginato en un baño que contiene cationes, tales como una solución de CaCl_2 donde los cationes se difunden desde la fase continua hacia el interior de las gotitas de alginato. a este método también se le atribuye “método por difusión”. ^[20,21]
- Gelificación interna, a este también se le llama “ajuste interno”, este método hace uso de una sal de calcio insoluble en agua, como el CaCO_3 que se mezcla con el alginato. Los iones de calcio se difunden desde el interior de la fase de alginato, esto se puede controlar con un disipador (puede ser el control del pH o la solubilidad de iones) poniendo en marcha la liberación de iones reticulados en la solución. ^[21]
- Gelificación por enfriamiento, este método utiliza una solución de alginato con una sal de calcio a temperaturas elevadas (90°C), que se deja fraguar e enfriar. La temperatura elevada en este método hace que sea menos suave. ^[22]

El uso de un alginato de alto peso molecular y la presencia de iones no gelificantes da lugar a un gel más homogéneo.

Geles de alginato preparados a través de la gelificación interna tienden a ser más propensos a la sinéresis ^[19] a diferencia del gel por ajuste externo. Geles de alginato preparados a través de la gelificación interna y la externa difieren en varias propiedades tales como la resistencia de la matriz, la rigidez, tamaño de poro y permeabilidad. ^[23]

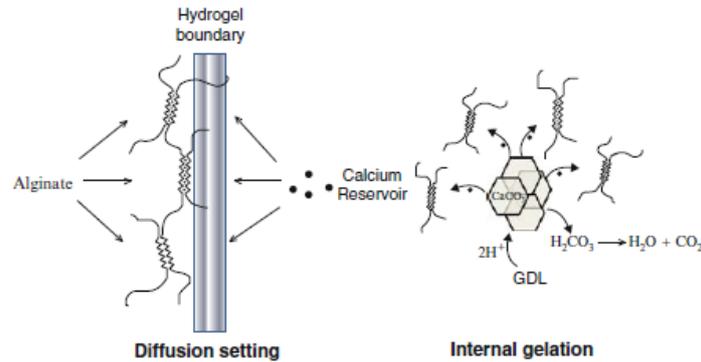


Figura.III.7. Ajuste de difusión y el método de gelación interna. [19]

3. MODIFICACIONES QUÍMICAS DEL ALGINATO

El alginato presenta en su estructura grupos hidroxilo y carboxilatos libres en toda su cadena polimérica, por ende estos grupos pueden sufrir cambios para la funcionalización química del biopolímero.

La modificación química del alginato se ha logrado utilizando técnicas tales como la oxidación, sulfatación, esterificación, amidación, etc. [24]

3.1. MODIFICACIÓN DE LOS GRUPOS HIDROXILOS

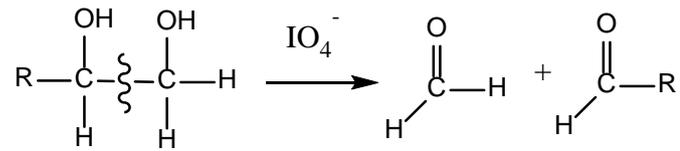
3.1.1. OXIDACIÓN

Las reacciones de oxidación de los grupos $-OH$ que están unidos a los carbonos C_2 y C_3 de los grupos urónicos del alginato es posible, gracias al ataque del peryodato de sodio el cual realiza la ruptura del enlace $C_2 - C_3$ (carbono - carbono) llevando a cabo así la reacción de *Malaprade* obteniéndose grupos aldehído. [24, 25]

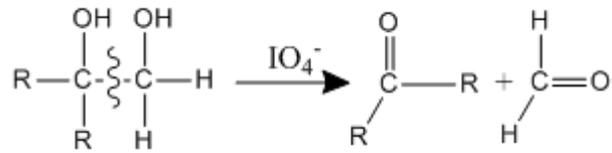
El enlace $C_2 - C_3$ en monosacáridos puede romperse también con ácido periódico cuando ambos carbonos presentan *grupos hidroxilo, grupos carbonilo o un grupo hidroxilo y un grupo carbonilo adyacente.* [25]

Las reacciones que pueden ocurrir son las siguientes:

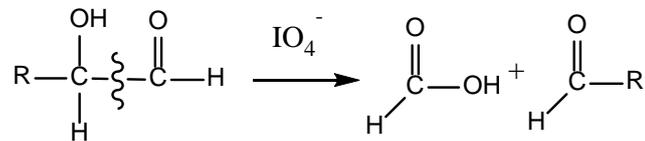
- 1) El alcohol primario se oxida a metanal y los alcoholes secundarios se oxidan a aldehídos.



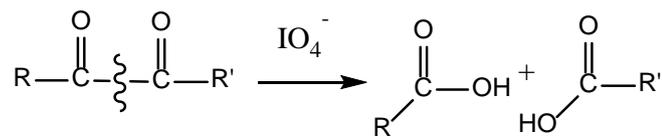
2) Los alcoholes terciarios se oxidan a cetonas.



3) Los aldehídos se oxidan a ácido fórmico.



4) Las cetonas se oxidan a ácidos carboxílicos.



En la **Figura.III.8**. Observamos la formación de grupos aldehídos los cuales son muy inestables y rápidamente reaccionan con los grupos alcohólicos ^[26] formando hemiacetales (**Figura.III.9**) ya que los grupos aldehídos son muy inestables.

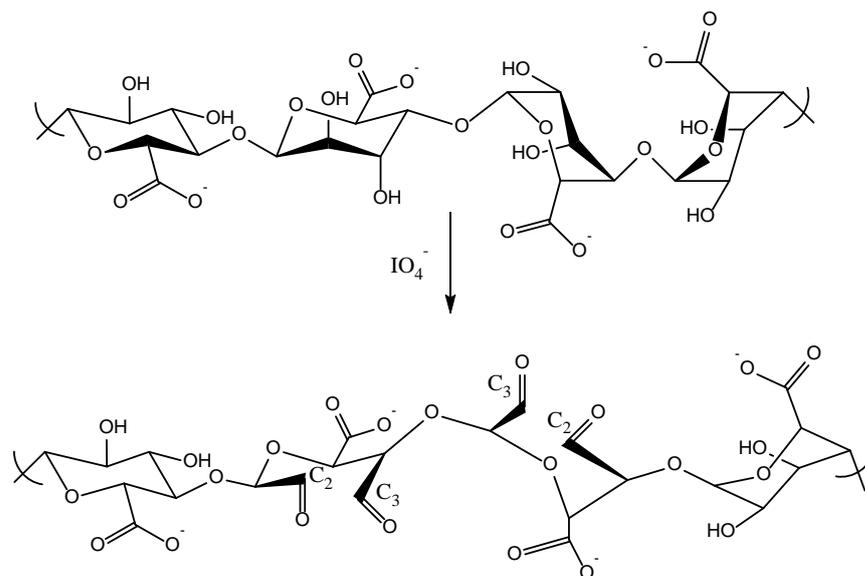


Figura.III.8. Oxidación del Alginato. ^[25]

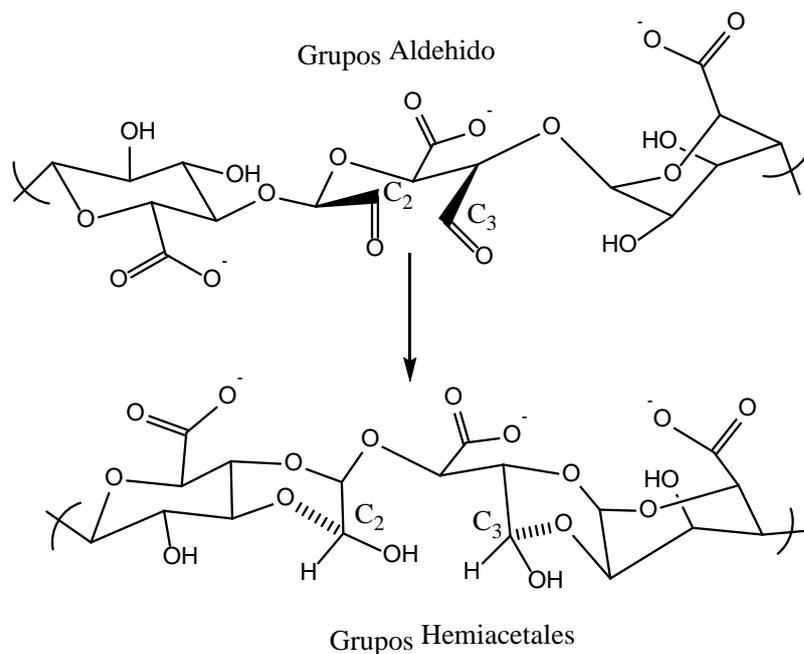
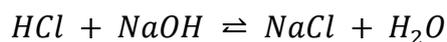


Figura.III.9. Hemiacetales del C₂ y C₃ del alginato de sodio. ^[27]

Se puede determinar el grado de oxidación mediante una titulación potenciométrica siguiendo las reacciones observadas en la **Ecuación.III.1**.



Ecuación.III.1. Reacción de oximación. ^[28]

Otro método para la determinación del grado de oxidación y/o consumo de peryodato en la oxidación es por yodometría. ^[29] Este método a comparación del anterior no es muy sensible.

3.1.2. AMINACIÓN REDUCTORA DEL ALGINATO

El alginato oxidado presentara nuevos grupos reactivos debido a la presencia de grupos Aldehído / Hemiacetales en la cadena polimérica. La aminación reductora se lleva acabo a un rango de pH adecuado para controlar la reducción del aldehído y llevar a

cabo la condensación formando la imina y reduciendo está a una amina secundaria. [24, 30]

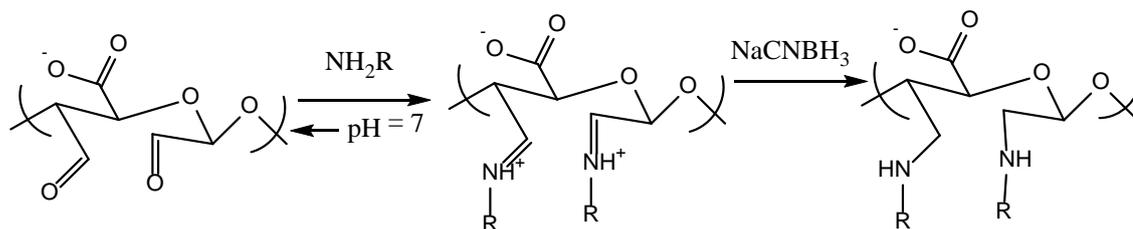


Figura.III.10. Aminación reductora del alginato oxidado. [24]

3.1.3. SULFONACIÓN

Este tipo de modificación a presentado gran interés debido a su alta compatibilidad sanguínea ya que presenta una similitud estructural con la heparina, que por más de 60 años viene siendo utilizada como una alternativa anticoagulante. [31] Esta modificación es producto de la reacción entre el alginato y HSO_3Cl en formamida, **Figura.III.11.**

El modificado de alginato tienen un alta capacidad anticoagulante especialmente la actividad vía coagulación intrínseca, estos resultados se prueban por ensayos con plasma humano. [32]

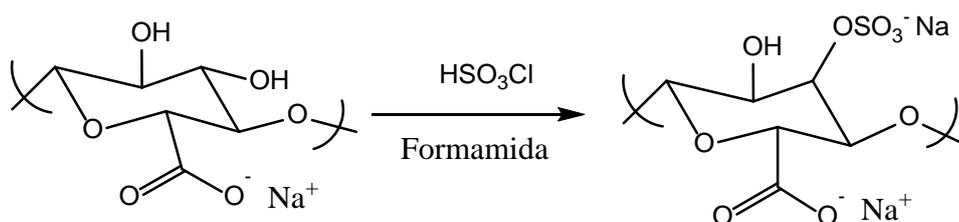


Figura.III.11. Modificación del alginato con HSO_3Cl . [32]

3.1.4. COPOLIMERIZACIÓN

En el 2002 se reportó un superabsorbente resistente a la solución salina preparada a partir de un copolímero de acrilato con alginato de sodio. Su investigación mostró que si el superabsorbente se deja hinchar en agua destilada y 0,9 % (masa fracción) acuosa de

NaCl a temperatura ambiente durante 30 min la absorción del agua del superabsorbente era alrededor de 1000 y 85 veces su propia masa. [33]

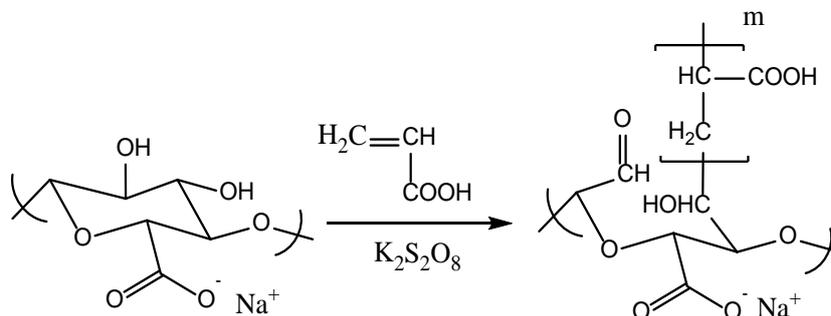


Figura.III.12. Copolimerización del alginato. [33]

3.2. MODIFICACIÓN DE LOS CARBOXILATOS

3.2.1. ESTERIFICACIÓN

El alginato puede ser modificado por esterificación directa con un grupo alcohólico, en presencia de un catalizador y alcohol en exceso para asegurar el equilibrio de está en favor de la formación del producto. [34]

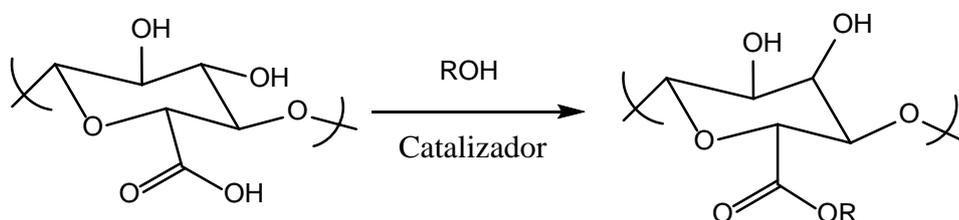


Figura.III.13. Reacción de esterificación. [34]

3.2.2. AMIDACIÓN

El alginato es hidrofóbicamente modificado mediante el uso de un agente de acoplamiento 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida clorhidrato (EDC-HCl) para formar enlaces amida entre amina que contiene moléculas y los restos de carboxilato en el esqueleto del polímero. [35,36] Este tipo de polímero es usualmente sintetizado para liberación controlada de fármacos.

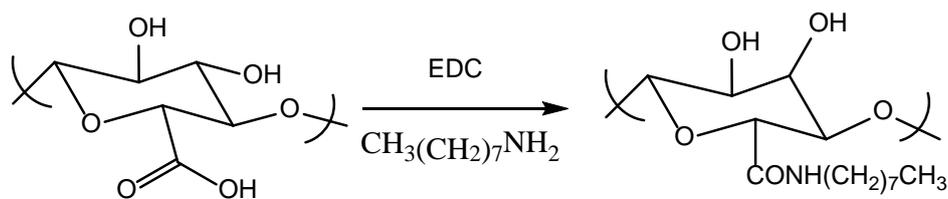


Figura.III.14. Reacción carbodiimida en solventes orgánicos. [35]

Durante las últimas décadas, ha habido una gran evolución tanto en el desarrollo de nuevos métodos de activación de aminoácidos y fragmentos peptídicos para el acoplamiento, como de su aplicación en solución y en fase sólida.

Estos métodos se basan principalmente en el uso de carbodiimidas y un gran número de sales de fosfonio y uronio. [37, 38]

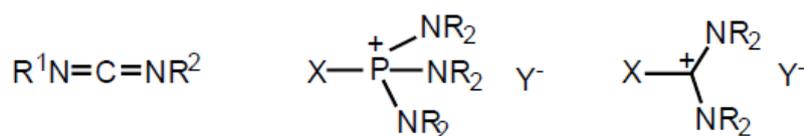


Figura.III.15. Carbodiimidas, sales de fosfonio y uronio. [37]

a) Procesos de activación

El proceso de activación de ácidos carboxílicos para la formación de enlaces amida se realiza, tanto en solución como en fase sólida, utilizando dos métodos:

- Activación in situ del ácido carboxílico.
- Preparación y aislamiento previo de las especies activas.

De los tipos de reacción y conjuntamente con los reactivos que pueden llevar a cabo este acoplamiento tenemos: carbodiimidas, sales de uronio y sales de fosfonio, de las cuales la reacción con carbodiimidas han llamado en la atención en los últimos años.

• Carbodiimidas

La dicitlohexilcarbodiimida (DCC) se ha utilizado ampliamente en síntesis peptídica, así como la diisopropilcarbodiimida (DIC). También se han utilizado carbodiimidas

como la 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) para síntesis peptídica en solución. De ella se destaca su solubilidad en agua, la cual permite separar del medio de reacción los restos de EDC sin reaccionar y sus subproductos generados, como la urea correspondiente, siendo esto difícil cuando se utiliza DCC. [39]

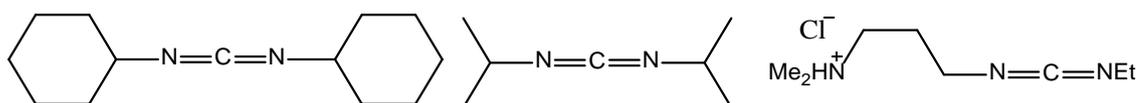


Figura.III.16. Tenemos DCC, EDC, DIC respectivamente. [39]

Las carbodiimidas se suelen utilizar en presencia de algún aditivo de tipo HOX con el fin de reducir los niveles de racemización. Así, se han usado como aditivos N – hidroxisuccinimida (HOSu), 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), 7-aza-1-hidroxibenzotriazol (HOAt) y 3,4- dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1, 2,3-benzotriazina (HOOBt).

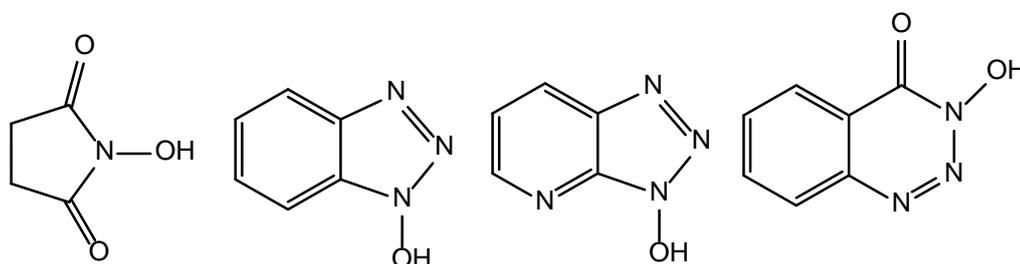


Figura.III.17. Tenemos HOSu, HOBt, HOAt y HOOBt respectivamente. [37,39]

b) Mecanismos de acoplamiento peptídico

La formación del enlace peptídico ocurre a través del ataque nucleofílico de una amina al carbono carbonílico activado de un ácido carboxílico, por lo que lo primero que se requiere es la activación de dicho grupo. Cuando el ácido tiene un carbono estereogénico en la posición α respecto al carbonilo, como es el caso de los α -aminoácidos, y se produce la activación, este centro puede racemizar, siendo este proceso una reacción lateral que conviene evitar o, cuando menos, reducir al máximo.

[37]

- Enolización de la especie activada.
- Formación y posterior enolización de una 5(4H) – oxazolona (ion oxazolonio en el caso de aminoácidos N-alquilados).

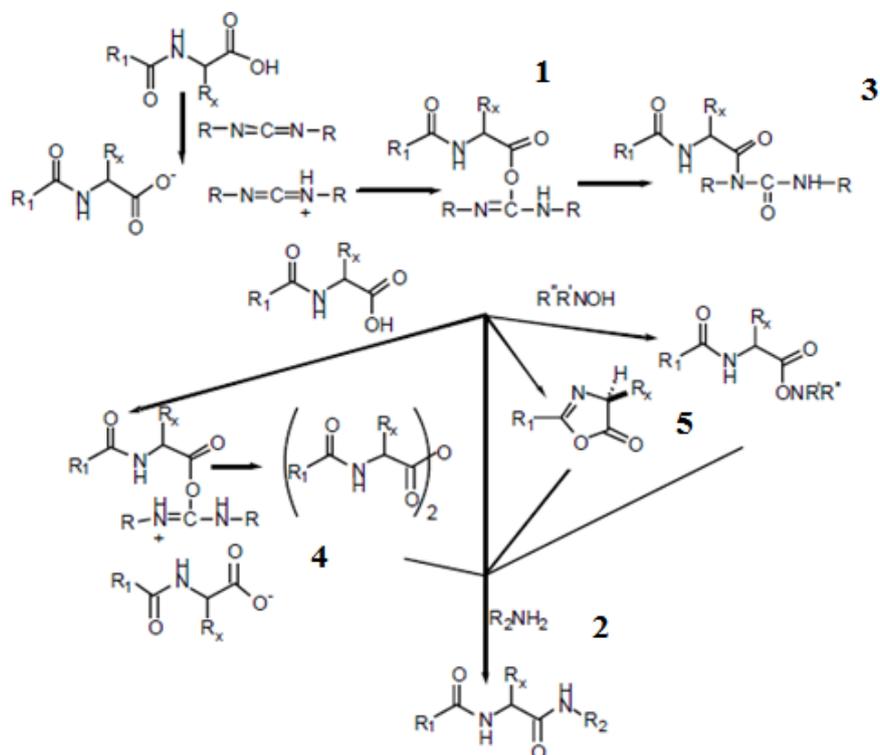


Figura.III.18. Mecanismo de acoplamiento con carbodiimidas. [37, 40]

En este caso existen muchas reacciones secundarias siendo estas: [37,41]

La transferencia de un protón para formar un par iónico intermedio, seguido de la adición del ácido carboxílico, lo que daría lugar a una O - actilourea (**1**). Este intermedio es muy reactivo y puede sufrir varios procesos:

- Ataque del nitrógeno de una amina para formar la amida correspondiente (**2**).
- Reordenamiento para dar lugar a la N-actilourea (**3**), que no es reactiva, y es un factor de la disminución en el rendimiento del acoplamiento final.
- Reacción con otra molécula de ácido carboxílico, lo que conduce al anhídrido simétrico (**4**).

Si el grupo es un α -aminoácido con un grupo N-carboxamido puede sufrir ciclación intramolecular para dar lugar a una 5(4H)-oxazolona (5).^[37]

4. POLÍMEROS TIOLADOS

Los polímeros tiolados muestran mejores propiedades cohesivas, como un proceso de oxidación simple en medio acuoso conduciendo a la formación de enlaces disulfuro inter y/o intramolecular (dentro de la red polimérica).^[42]

Actualmente estudios de tímeros son particularmente útiles para la aplicación no invasiva de fármacos peptídicos. Por ejemplo, una reducción significativa en el nivel de glucosa de ratones diabéticos, se consiguió mediante la administración oral de micropastillas de insulina sobre la base de un polímero tiolado^[42,43].

- **Cisteína**

Es un aminoácido (**Figura.III.19**) que comprende un amplio espectro de funciones, entre las cuales se incluye la formación de puentes disulfuro, unión a metales, donación de electrones, hidrólisis y catálisis redox. El grupo tiol de la cisteína es fácilmente desprotonado en condiciones de pH fisiológico, y el tiolato resultante es uno de los grupos funcionales más reactivos encontrados en proteínas, por lo que a menudo se encuentran tioles en forma reactiva en la célula^[44]. El valor del pKa del grupo tiol para la cisteína es de 8.3. Debido a su alta reactividad, el grupo tiol de la cisteína tiene numerosas funciones biológicas.^[45]

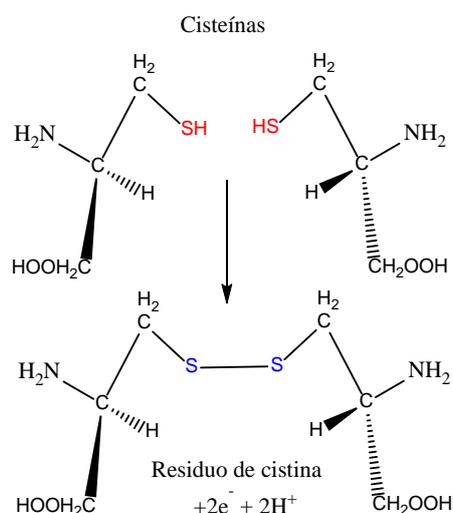


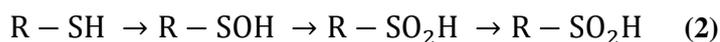
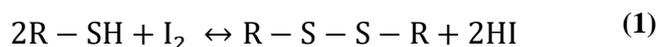
Figura.III.19. Formación de los puentes disulfuro.^[45]

Debemos tener en cuenta que los aminoácidos dependiendo de sus puntos isoeléctricos, tienen diferente actividad química gracias a la protonación - desprotonación de algunos grupos funcionales que presentan.

Tabla.III.4. Valores de pKa de Aminoácidos ^[45]

Aminoácido	pKa α - COOH	pKa α - NH ₃ ⁺	pKa Cadena lateral
Alanina	2,34	9,69	-
Arginina	2,17	9,04	12,48
Asparagina	2,02	8,84	-
Ácido aspartico	2,09	9,82	3,86
Cisteína	1,92	10,46	8,35
Ácido glutámico	2,19	9,67	4,25
Glutamina	2,17	9,13	-
Glicina	2,34	9,60	-
Histidina	1,82	9,17	6,04

La cisteína sufre un proceso de oxidación severo en presencia de solución de yodo, esto va a favor del uso de un método para la determinación del grado de oxidación de la cisteína (disulfuro). ^[46]



Ecuación.III.2. Proceso de oxidación de tioles por acción del yodo. ^[46]

En la **Ecuación.III.2** se observa en: (1) Reacción de oxidación de la cisteína, (2) Serie de compuestos de la cisteína cuando se oxida con otros agentes oxidantes [O]. ^[46]

5. SORCIÓN

El descubrimiento y desarrollo de fenómenos de sorción ha provisto la base para una nueva y amplia biotecnología, la cual apunta a la remoción de metales pesados o metaloides haciendo uso de materiales biológicos. La sorción implica fenómenos de adsorción y absorción de cationes de metales pesados a través de biomasa de organismos vivos o muertos tales como bacterias, algas, residuos agrícolas, diversos biopolímeros. La ventaja principal de la sorción es el coste/efectividad siendo basado en el uso de materiales de "bajo costo". [47]

5.1. ALGUNOS MATERIALES UTILIZADOS

Entre otros materiales tenemos por ejemplo: [47, 48]

- Quitosano: El quitosano es preparado de la quitina, por ejemplo del esqueleto de los crustáceos, por un proceso de *N – desacetilación* a elevada temperatura en NaOH_(cc).

Se ha experimentado la biosorción de vanadio (IV) en quitosano concluyéndose que el proceso de biosorción está influenciado por el pH, tamaño de partícula y la concentración del ión en la solución.

- Levaduras: Se ha usado la biomasa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en la bioadsorción de iones metálicos como el Cu⁺², Cd⁺², Zn⁺²; asimismo, la remoción de estos es afectada por el pH.
- Algas: Las algas se utilizan como biosorbentes de metales pesados debido a que su pared celular contiene un gran número de grupos funcionales, principalmente carboxílicos. Así pues la biosorción de metales depende por tanto de la protonación o desprotonación de estos grupos carboxílicos, es decir hay una dependencia de la adsorción con el pH.

Se utilizan biomasa no viva de plantas de agua dulce para biosorber iones metálicos. El mecanismo de sorción es principalmente el intercambio iónico entre iones metálicos y los intercambiadores fuertemente catiónicos presentes en la superficie de la planta.

Así como el uso de estos materiales sorbentes también tenemos organismos vivos que cumplen esta función, bacterias, hongos y levaduras. Donde la fuente principal de estos organismos ha sido el principal interés para aprovechar sus propiedades sorbentes ya

que los biopolímeros como el alginato, quitina, pectina, celulosa forman parte de la pared celular de estos y serian el responsable de la sorción. ^[49]

Tabla.III.5. Técnicas para la sorción de metales pesados ^[50]

TÉCNICA	DESCRIPCIÓN	COMENTARIO
Carbón activado	La remoción se da principalmente por adsorción hidrofóbica.	- Muchas veces no es efectivo - Presenta problemas para regenerarse.
Sorción	Adsorción y absorción de metales pesados por biomasa de organismos vivos o muertos.	- Tecnología de bajo costo. - Es cinéticamente un proceso rápido.
Intercambio iónico	El intercambio iónico se remueve por la acción de resinas.	- Alto capital y costos de operación. - Tecnología muy bien establecida.
Extracción con solventes	Extracción de iones metálicos con agentes quelantes en solventes no polares.	- Alto capital y costos de operación.
Osmosis inversa	Eliminación de iones metálicos por permeación a través de membranas	- Alto capital y costos de operación. - Es necesario realizar un pre-tratamiento para evitar problemas de unión química, fouling , plugging .

Tabla.III.6. Valores promedio de Q max (mmol/g) de iones metálicos en alga ^[51]

Iones Metálicos	Alga Parda	Alga Roja	Alga Verde	Valor promedio
Cd^{+2}	0,930	0,260	0,598	0,812
Ni^{+2}	0,865	0,272	0,515	0,734
Zn^{+2}	0,676	-	0,370	0,213
Cu^{+2}	1,017	-	0,504	0,909
Pb^{+2}	1,239	0,651	0,813	1,127

Tabla.III.7. Qmax (mmol/g) de diferentes Materiales ^[52]

Sorbentes	Cu	Pb	Cr	Ni
Zeolita Natural	-	0,18	-	-
Carbón activado polvo (vegetal)	-	0,10	-	-
Pseudomonas aeruginosa	0,29	0,33	-	-
Rhizopus arrhizus (fungus)	0,25	0,50	0,27	-
Carbon activado granular	0,03	0,15	0,07	1,127
Resinas de intercambio iónico	-	1,37	0,59	-
Fucus vesiculosus	0,97	1,04	1,12	0,08

Para la remoción de metales pesados en solución acuosa debemos tener en cuenta las condiciones del metal su solvatación, estabilidad, propiedades físico/químicas, etc.

El plomo es un metal tóxico, que no puede ser degradado o disociado por ser un elemento básico. Actualmente el mayor uso del plomo es en la producción de baterías para autos, otros usos comunes se dan en la producción de protectores para cables (eléctricos, TV, internet, etc), materiales de construcción, munición, fabricación de pigmentos sintéticos, refinación de petróleo, etc. Por ello este metal cada día está más expuesto a la población.

El plomo es causante de la enfermedad del saturnismo y este puede ingresar a nuestro organismo fácilmente por ingestión de alimentos o líquidos, por inhalación y absorción al contacto con la piel. ^[53]

Los niños absorben mayores cantidades de plomo por unidad de masa corporal que los adultos (hasta un 40 %). Por lo tanto los niños son generalmente más vulnerables al envenenamiento por plomo. Algunos síntomas son la disminución del CI, cambios de comportamiento y desorden en la concentración.

Asimismo existen ya estudios referentes a la sorción de plomo y las condiciones adecuadas de trabajo:

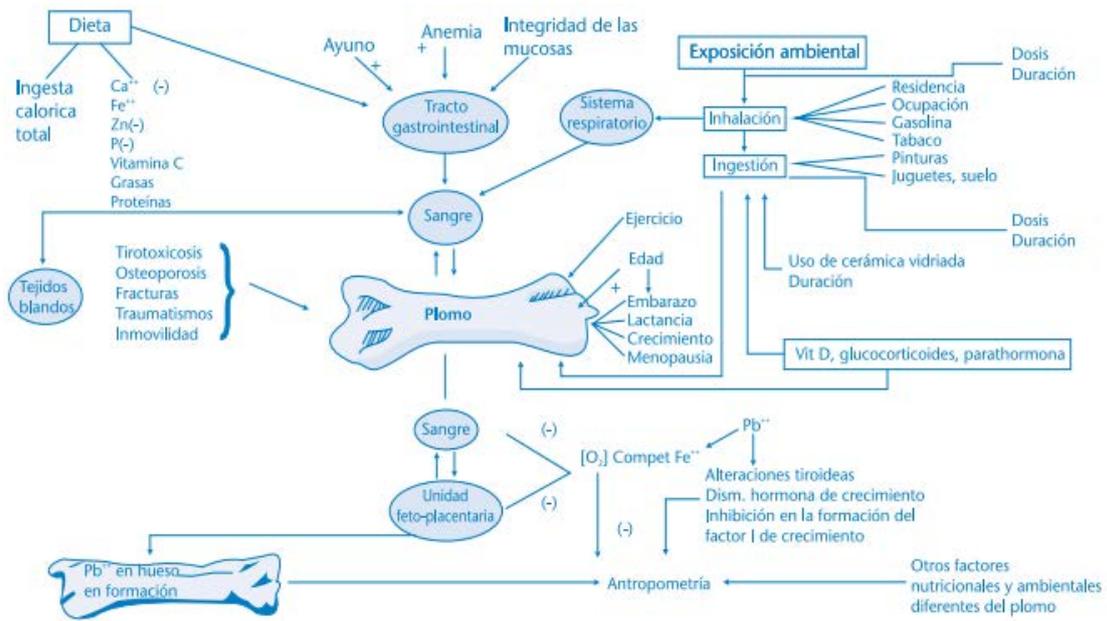


Figura.III.20. Modelo biológico del plomo. [54]

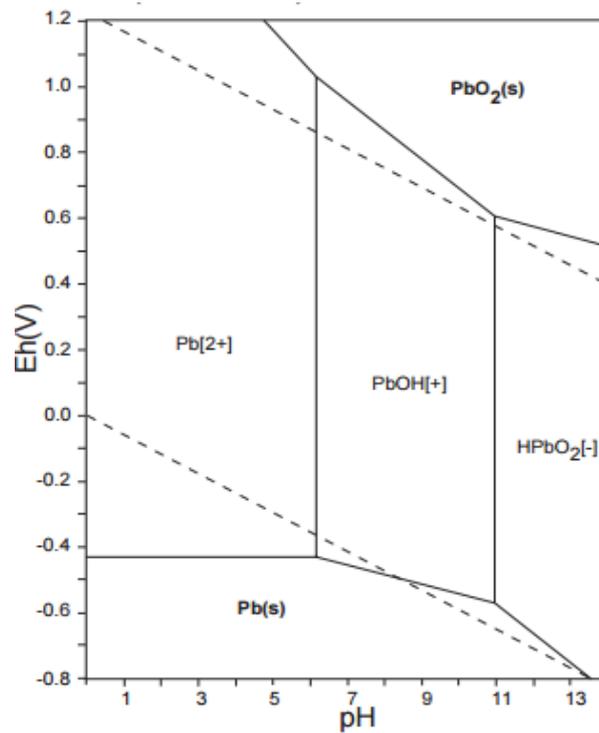


Figura.III.21. Diagrama de Pourbaix para el plomo Pb^{+2} . [55]

En la **Figura.III.21** se observa en que rango se encuentra el Pb^{+2} en solución y a qué condiciones y compuestos precipita. La sorción en medio acuoso se realiza en el rango 1 – 6 de pH, no obstante aún se encuentra como ión $Pb(OH)^+$ en el rango de 6 – 9.

Tabla.III.8. Influencia del pH en la eficiencia de sorción (SE) y capacidad de sorción (SC) de plomo (Pb^{+2} mg/g) ^[47]

Sorbente	pH = 3			pH = 4			pH = 5			pH = 6		
	pH _f	SE	SC									
A.niger	3,3	44,4	103	4,8	58,0	129	6,0	43,1	107	6,1	54,6	102
R.Conhii	3,2	3,7	9	4,6	34,0	76	4,8	45,9	113	5,0	44,3	83
L.Trabeculata	3,1	11,4	26	4,0	12,0	27	4,9	13,7	34	5,2	23,8	45
A.nodosum	3,2	41,8	97	5,0	48,6	108	5,4	59,7	149	5,6	68,4	127
Alginato	3,2	88,5	205	4,2	55,2	123	5,1	56,0	140	5,9	31,5	59
Quitosano	5,2	8,1	19	5,5	10,1	22	5,7	17,7	44	6,0	21,5	40

El cadmio es un elemento que existe en la naturaleza como un componente menor de los minerales de metales no ferrosos, que puede ser arrastrado a grandes distancias por efecto del viento y depositado por la lluvia o la nieve. ^[56]

La emisión del cadmio al medio ambiente puede ser de forma natural ^[57] y antropogénica; sin embargo, a nivel local las fuentes antropogénicas son las que más influyen en la dispersión del elemento, tal es el caso de la industria de fundición, refinación y de manufactura de productos que contienen cadmio, como son: la galvanoplastia, pinturas y pilas de níquel-cadmio, entre otras ^[56] por ejemplo, en la industria de la galvanoplastia, a pesar de existir planteamientos de disminución y

eliminación o sustitución de ciertos compuestos utilizados en los procesos por otros más amigables al ambiente, todavía se continúan aplicando Cd^{+2} .

En México, Perú, como en muchos países en desarrollo, no hay normatividad sobre los niveles permisibles de contaminantes en el suelo.

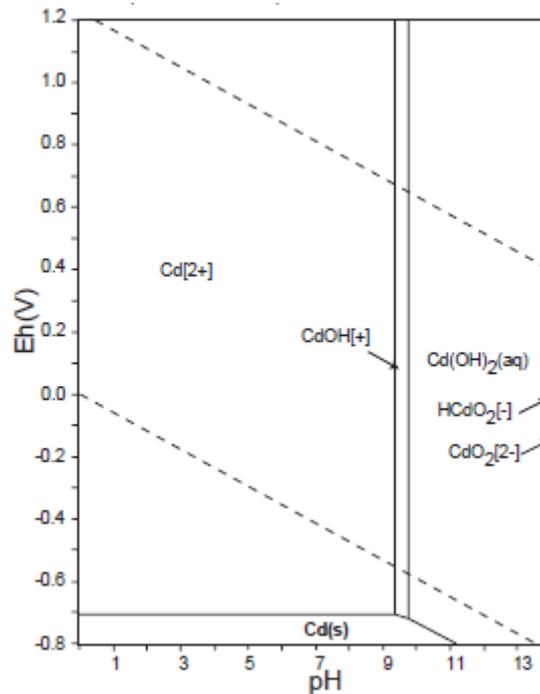


Figura.III.22. Diagrama de Pourbaix para el plomo Cd^{+2} . [55]

5.2. MODELO TEÓRICO APLICADO A LA SORCIÓN

5.2.1. MODELO DE LANGMUIR

Este modelo para el caso de la sorción de iones en medio acuoso, por materiales de origen biológico se expresa por medio de la ecuación: [58]

$$q = \frac{Q_{\max} b C_{\text{eq}}}{1 + b C_{\text{eq}}} \dots (I)$$

Donde q se determinara por la ecuación:

$$q = \frac{(C_i - C_{\text{eq}})V}{m} \dots (II)$$

Donde, q es la cantidad de ión sorbido por gramo de sorbente, C_{eq} es la concentración del ión metálico cuando el sistema de biosorción alcanza el estado de equilibrio termodinámico, C_i es la concentración inicial del ión, V es el volumen tomado para realizar la sorción, m es la masa seca del material que realiza la sorción.

En la primera ecuación (I), b es la constante de equilibrio correspondiente al proceso de biosorción y Q_{max} es la máxima capacidad de sorción correspondiente a 1 g de sorbente.

El % Removido se expresa como:

$$\% r = \left(\frac{C_o - C_e}{C_o} \right)$$

C_e es la concentración del ión metálico cuando el sistema de sorción alcanza el estado de equilibrio termodinámico, C_o es la concentración inicial del ión y % r indica el porcentaje de remoción.

5.2.2. MODELO FREUNDLICH

Para el caso de sorción de metales pesados el modelo de adsorción se expresa por: ^[58,59]

$$q = KC_{eq}^n$$

Donde, q es la cantidad de ión adsorbido por gramo de biosorbente y se puede determinar siguiendo la ecuación (II), C_{eq} es la concentración del ión metálico cuando el sistema de sorción alcanza el estado de equilibrio termodinámico, n expresa la dependencia matemática de la cantidad de sustancia sorbida con respecto a la concentración en equilibrio.

La ecuación linealizada de Freundlich se expresa usualmente en su forma logarítmica:

$$\text{Log}(q) = \log(k) + 1/n \log(C)$$

Los valores de K y $1/n$ pueden ser obtenidos del intercepto y la pendiente que resultan de graficar $\log(q)$ vs $\log(C)$. ^[58]

6. CARACTERIZACIÓN DE BIOPOLIMEROS

6.1. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

La determinación de la estructura y composición secuencial debe considerarse una tarea obligatoria cuando se trata del alginato. Esto es debido a que estas dos características afectan fuertemente a las propiedades del polisacárido así como a sus propiedades finales, tanto en aplicaciones biotecnológicas y de alimentos.

Se ha comprobado que la distribución del monómero a lo largo de la cadena del alginato no se puede describir mediante el uso de estadísticas de Bernoulli ^[60,61]. Por otra parte, un modelo de Markov ^[62] de segundo orden puede proporcionar una descripción aproximada de la secuencia de monómeros en el polisacárido.

El conocimiento de la composición monomérica del alginato no es suficiente para determinar la estructura secuencial de alginato. Por ende una caracterización completa del polisacárido desde el punto de vista de la composición, se puede lograr por RMN ¹H y RMN ¹³C. ^[63]

La espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) en disolución es una de las técnicas más poderosas para la elucidación estructural de compuestos moleculares mediante la caracterización de los desplazamientos químicos, los acoplamientos y las intensidades relativas de los picos de resonancia. ^[64]

La Resonancia Magnética Nuclear en Estado Sólido, ^[64] es una técnica no destructiva, rápida y fiable a diferencia de los espectros en disolución, los espectros en estado sólido son mucho más anchos en los que se pierde la “alta resolución” que se obtiene en los RMN de líquidos. Al aplicar esta técnica a los sólidos se trata de recuperar la resolución que tienen los espectros en líquidos. Para ello se debe tener en cuenta las diversas interacciones nucleares presentes a continuación.

- a) **La interacción Zeeman.-** Este término resulta de la interacción del momento magnético del núcleo μ_N con el campo magnético estático H_0 .
- b) **La interacción dipolar.-** Tiene lugar entre los espines que interactúan a una distancia r que depende de la estructura. Este ensanchamiento depende del término $(1-3\cos^2\theta)$ donde θ es el ángulo entre el vector intranuclear y el campo magnético aplicado.

- c) **Interacción de desplazamiento químico.-** Este término aparece por la modificación local del campo magnético aplicado que experimenta un núcleo dado debido a que está en un entorno de electrones determinado.
- d) **Acoplamiento espín-espín.-** Una interacción indirecta entre espines mediado por electrones también puede ocurrir.
- e) **Interacciones cuadrupolares.-** El término cuadrupolar aparece por la interacción del espín nuclear con el gradiente de campo eléctrico no esférico de la red en la posición en la que se encuentra el núcleo.

La diferencia entre la RMN de estado líquido y la RMN de estado sólido radica principalmente en el grado de movilidad molecular. En los líquidos, las moléculas son libres para realizar movimientos de rotación y traslación de manera isotrópica. La rotación es particularmente importante porque promedia a cero interacciones que tienen dependencia orientacional. Por lo tanto, en líquidos, todas las interacciones anisotrópicas que dependen del término $(3\cos^2\theta - 1)$ no son observables de manera directa. Las líneas espectrales son angostas y relativamente bien resueltas.

En RMN de estado sólido la situación es diferente. Los movimientos rotacionales de las moléculas están restringidos, por lo tanto la mayoría de las interacciones anisotrópicas permanecen. Además, en el caso de muestras en polvo que consisten en un gran número de pequeños cristales, cada cristal tiene su propia orientación angular, como resultado se obtienen líneas espectrales anchas. De esta manera, para obtener una alta resolución en RMN de estado sólido se necesita imitar los procesos de promedio que se producen en un líquido. ^[64]

El problema básico es obtener espectros de alta resolución en estado sólido implementando procedimientos experimentales que eliminen las interacciones dipolares y produzcan valores isotrópicos medios para los demás tipos de interacciones a excepción de la cuadrupolar.

Por ende la RMN en estado sólido se apoya en implementar procedimientos para aumentar la resolución como:

- **Rotación al Angulo Mágico (Magic Angle Spinning (MAS)).**
- **Desacoples (Heteronuclear y Homonuclear).**
- **Polarización Cruzada (Cross Polarization (CP)).**

Estos procedimientos en conjunto con las medidas en resonancia magnética nuclear disminuyen el ensanchamiento de los picos, las interacciones de desplazamiento químico se reducen al mínimo mejorando la sensibilidad, además pueden disminuir la relación señal/ruido.

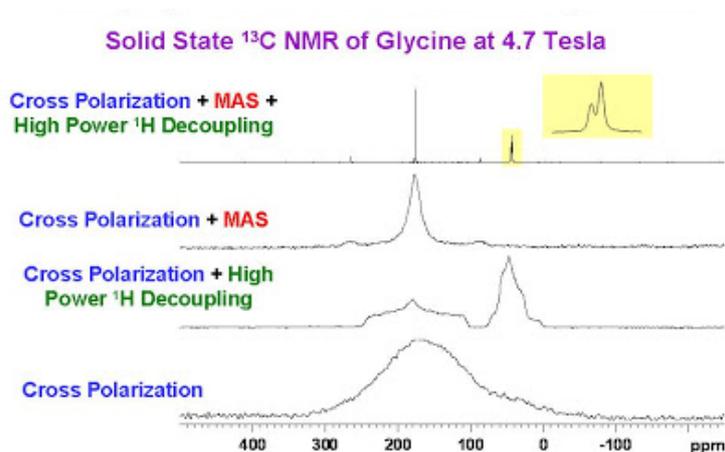


Figura.III.23. Efecto del ángulo mágico (MAS), polarización cruzada (CP) y desacoplamiento en el RMN ^{13}C en estado sólido de la glicina ^[65]

Recientes análisis se han realizado al alginato para su caracterización y búsqueda de nuevos métodos de caracterización, tanto en elucidar su estructura del biopolímero de partida, cuantificando el % de los grupos urónicos por un modelo de resolución de curvas multivariadas y otros modelos matemáticos. ^[66] Asimismo, se obtienen mejores respuestas en los espectros para modificaciones químicas de biopolímeros brindando mayor información. ^[67]

En el espectro del alginato para la elucidación estructural existe ya la asignación de diversos picos característicos hacia cada carbono presente en los grupos urónicos. Estos datos se obtuvieron por ensayos precedentes en RMN ^{13}C en estado líquido. ^[63] De estos datos sea logrado realizar algo semejante en RMN ^{13}C en estado sólido. ^[66]

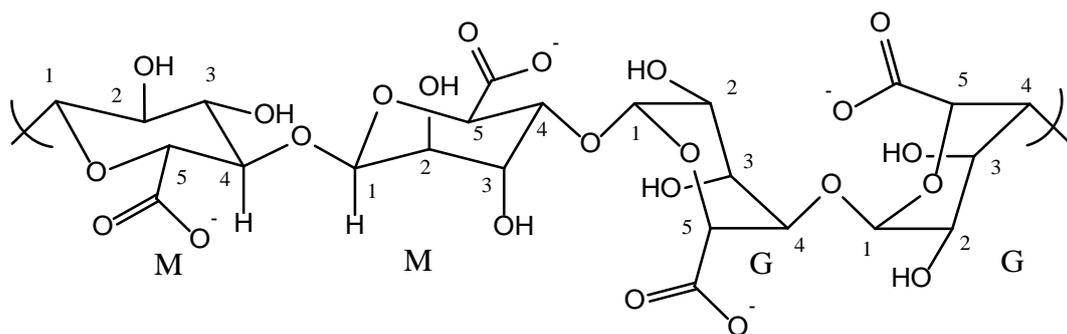


Figura.III.24. Estructura del alginato con cada carbono enumerado.

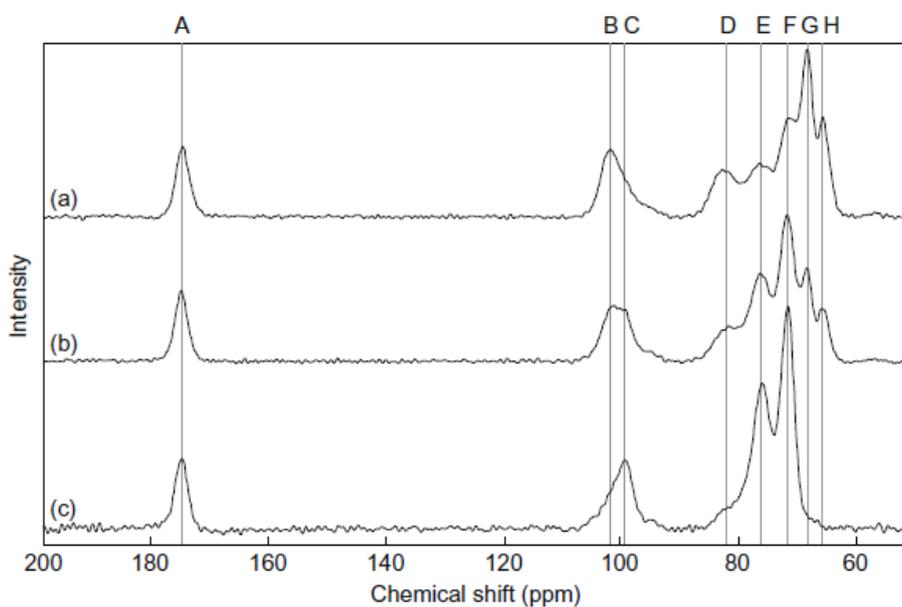


Figura.III.25. RMN ^{13}C en estado sólido con CP- MAS de alginato de sodio (a) 35 %, (b) 65 % y (c) 100 % manurónico. ^[66]

Los picos A, B, C, D, E, F, G, H se asignaron en la **Tabla.III.9** corresponden a cada pico del espectro para cada carbono de los grupos urónicos.

Tabla.III.9. Asignación de los espectros RMN ^{13}C CP- MAS de la **Figura.III.25** ^[66]

^{13}C Resonancia													
	COO ⁻		C-O-C		Piranosas								
Notación (Figura.III.25.)	A		B	C	D	E		F		G		H	
Para cada carbono (C)	G ₆	M ₆	G ₁	M ₁	G ₄	M ₄	M ₅	M ₃	M ₂	G ₃	G ₅	G ₂	
Desplazamiento químico	176,2		102,2	99,5	82,2	76,4		71,6		68,4		65,5	
Desplazamiento (Grasdalen ^[63])	GxG	177,3	177,7	103,3	103,8	82,6	80,7	78,8	74,3	73,3	71,8	69,9	67,8
	MxM	177,6	177,1	102,2	102,8	82,6	80,3	78,9	74,1	72,2	72,1	70,2	67,4

Los desplazamientos químicos en el estado sólido, son semejantes con los espectros de resonancia ^{13}C obtenidos por grasladen ^[63]. El desplazamiento químico del puente glucosídico se encuentra muy afectado al entorno que pueda presentar, a ello la variación en el rango de 102,2 – 99,5 ppm y mientras el porcentaje del grupo manurónico (M₁) aumenta se observa la desaparición de los grupos G₁ y por el contrario a una disminución del porcentaje del grupo manurónico (M₁) aumentan los grupos G₁. ^[67]

6.2. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

La espectroscopia Infrarroja es extremadamente sensible a la estructura, la conformación y el entorno químico de un compuesto y por ende es una técnica indispensable en la caracterización. Se da uso como una técnica cualitativa para la identificación de grupos funcionales en un compuesto. ^[68]

La frecuencia de cada banda del espectro Infrarrojo (IR) depende de la constante de fuerza de cada enlace interatómico, de ahí que el espectro de absorción en la región infrarroja depende del conjunto de enlaces que constituyen la estructura molecular y sea distinto y característico de cada molécula como una huella digital. ^[68]

Dos de las técnicas más usadas para la caracterización de polímeros son:

- Reflectancia total atenuada.

- Reflectancia especular.
- Reflectancia difusa.

6.2.1. REFLECTANCIA TOTAL ATENUADA

Esta gama de dispositivos son especialmente útiles para obtener espectros IR de muestras que no pueden ser colocadas en los soportes habituales para el método de transmisión. Esta técnica es apropiada para estudiar sólidos gruesos insolubles o muy absorbentes, muestras líquidas, incluyendo láminas, recubrimientos, polvos, hilos, adhesivos, polímeros y muestras acuosas. Esta técnica permite trabajar sin ningún pre - tratamiento a la muestra en estado sólido o líquido. ^[68]

6.2.2. REFLECTANCIA ESPECULAR

Constituye un método no destructivo para analizar capas delgadas sobre sustratos selectivos sin necesidad de preparación de la muestra. La reflexión especular se observa cuando el medio reflectante es una superficie enormemente pulida.

Los espectros de reflexión especular se pueden utilizar para el examen y caracterización de las superficies lisas de sólidos y de sólidos revestidos, pero no se utiliza tanto como los espectros de reflexión difusa y total. ^[68]

6.2.3. REFLECTANCIA DIFUSA

La espectrometría de reflectancia difusa es una forma eficaz de obtener espectros en el infrarrojo directamente sobre muestras pulverizadas con un mínimo de preparación de la misma. Además de ahorrar tiempo en la preparación de la muestra, permite la obtención de datos de la región espectral del infrarrojo convencional de muestras que no han sufrido una alteración apreciable de su estado original. Para el análisis, basta con hacer una mezcla al 5 % de la muestra molida en $\text{KBr}_{(s)}$. ^[68]

En la siguiente figura, observamos el espectro FTIR del alginato de sodio:

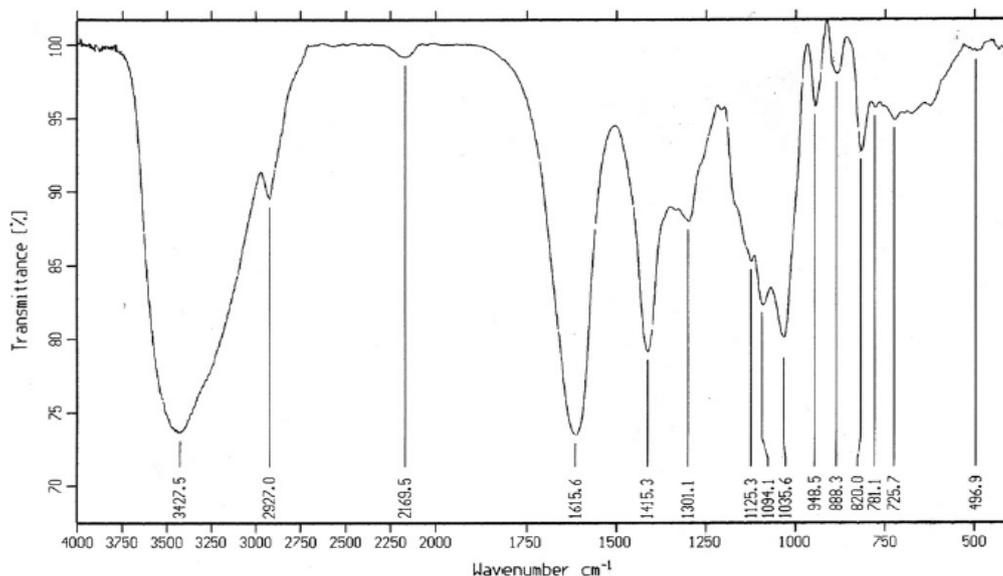


Figura.III.26. Espectro FTIR del alginato de sodio. ^[69]

En la **Figura.III.26** en la región 3600 – 1600 aparecen 3 bandas: la banda ancha centrada a $3427,5 \text{ cm}^{-1}$ es asignado a la vibración tipo estiramiento del hidrogeno unido en el O – H, la señal débil a $2927,0 \text{ cm}^{-1}$ es debido a las vibraciones de tensión del enlace C – H, y el estiramiento asimétrico de la vibración O – C – O del grupo carboxilato a $1615,6 \text{ cm}^{-1}$. La banda a $1415,3 \text{ cm}^{-1}$ puede ser debido a la deformación vibracional del enlace C – OH con la contribución de O – C – O simétrica vibración de tensión del grupo carboxilato. ^[69]

Las bandas débiles a $1301,1 \text{ cm}^{-1}$ puede ser asignado a la deformación de C – C –H y O – C – H, $1125,3 \text{ cm}^{-1}$ a la tensión C – O, y $1094,1 \text{ cm}^{-1}$ a las vibraciones de estiramiento de C – O y C – C en el anillo de la piranosa. La banda $1035,6 \text{ cm}^{-1}$ también puede ser asignado a la vibración de estiramiento de C – O. En la región de la huella digital, o región anomérica ($950 - 750 \text{ cm}^{-1}$) tenemos que el espectro muestra una banda a $948,5 \text{ cm}^{-1}$ la cual se asignó a la vibración de estiramiento de C – O en los residuos de ácidos urónicos, y a $888,3 \text{ cm}^{-1}$ se asigna la deformación vibracional de C₁ – H del grupo β – manurónico. ^[69]

6.3. VISCOSIMETRÍA

La determinación del peso molecular de un polímero se puede obtener mediante medidas de viscosidad. Se aprovecha el gran incremento de la viscosidad al preparar

soluciones poliméricas, esto debido a las interacciones de las macromoléculas con las moléculas del solvente. El incremento de la viscosidad es mayor a un alto peso molecular del polímero. El peso molecular de los polímeros está relacionado con la viscosidad intrínseca, o índice de viscosidad límite, a través de la ecuación Mark – Houwink – Sakurada, $[\eta] = KM^a$ donde k y a se calculan determinando la viscosidad intrínseca y el peso molecular medio numérico o en peso de fracciones. [70]

$$n_{rel} = t/t_o \text{ viscosidad relativa}$$

$$n_{sp} = \frac{t - t_o}{t_o} \text{ viscosidad específica}$$

$$n_{red} = n_{sp}/c \text{ viscosidad reducida}$$

$$n_{inh} = \frac{\ln(n_{rel})}{c} \text{ viscosidad inherente}$$

Ecuación.III.3. Viscosidades [71]

La viscosidad intrínseca de los polímeros puede ser calculada por viscosimetría de disoluciones de diferentes concentraciones haciendo uso de ecuaciones empíricas como las de Huggins, Kraemer y Schulz-Blaschke.

$$\frac{n_{sp}}{c} = [\eta] + k_1[\eta]^2c \text{ (Huggins)}$$

$$\frac{\ln(n_{rel})}{c} = [\eta] + k_2[\eta]^2c \text{ (kraemer)}$$

$$n_{sp} = [\eta] + k_{SB}[\eta][\eta]_{sp}c \text{ (Schulz – Blaschke)}$$

Ecuación.III.4. Ecuaciones que relacionan a la viscosidad intrínseca [71]

De la **Ecuación.III.3** y **Ecuación.III.4** podemos obtener la construcción de un gráfico para el cálculo de la viscosidad límite, siendo esta última una extrapolación hacia el valor de $c \rightarrow 0$.

$$\lim_{c \rightarrow 0} \frac{n - n_o}{n_o} = [\eta] = \text{Viscosidad intrinseca}$$

De aquí se puede relacionar la viscosidad intrínseca con el peso molecular de un polímero mediante la ecuación de Mark – Houwink – Sakurada:

$$[\eta] = KM^a$$

Donde k y a son constantes y dependen del polímero, de la temperatura y del solvente.

El valor de $[\eta]$ se determina mediante las medidas del viscosímetro.

En la **Figura.III.27** tenemos un ejemplo de la representación de Huggins para la determinación de la viscosidad intrínseca por extrapolación, en este ejemplo se determina el peso molecular del alginato de tipo SVLV (●) y SVHV (■) a 25°C en 0.1M NaCl.^[72]

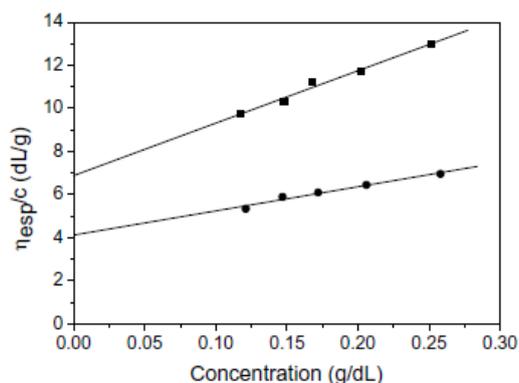


Figura.III.27. Representación de Huggins.^[72]

Tabla.III.10. Valores de las viscosidades intrínsecas y de los parámetros Mark – Houwink – Sakurada, para diferentes tipos de alginato^[73]

Fuente y Organismo productor de alginato	Solución	T(°C)	$[\eta]$ (cm ³ /g)	M _w (g/mol)	K (cm ³ /g)	a	Referencias
Laminaria Digitata	0,1M NaCl	20		112 K – 270 K			Smidsrod 1970
Laminaria Hiperbórea	0,1M NaCl	20	350 - 250	170 K – 940 K	0,0120	1,11	
Azobacteria Vinelandi	0,1M NaCl	20	810 – 1,7 k	270 K – 610 K	0,0501	0,91	
Macrocistis piriferia	0,1M NaCl	25	548	197,3 K	0,0073	0,92	Martinsen 1991
Laminaria Japónica			1540	750 K			Volesky 1997
Laminaria Hiperbórea	0,1M NaCl	20	910				Ouwerx 1998
Alginate (Aldrich)	0,1M NaCl	25	1074	410 K	0,0073	0,92	Gomez 2003

6.4. ANÁLISIS TÉRMICO

El análisis térmico se fundamenta en la medida, tanto del calor y de la temperatura, así como los cambios que esto desencadena en la muestra. Este análisis es útil para estudiar las propiedades físicas de compuestos que son sensibles a cambios térmicos donde estos absorben o ceden calor. [64]

En este trabajo se ha llevado a cabo dos técnicas: La calorimetría diferencial de barrido (DSC) y la termogravimetría (TGA).

6.4.1. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

Es una técnica que mide el flujo de calor intercambiando en una muestra al variar su temperatura. Esta técnica determina las temperaturas a las cuales ocurren los cambios físicos y químicos asimismo informa de la magnitud energética de este cambio en la sustancia. [74]

La gráfica que se obtiene del calorímetro DSC como respuesta se conoce como termograma. Esta curva se ve afectada por:

Factores instrumentales: Velocidad de operación, estado de las capsulas y el tipo de sensores utilizados.

Factores debido a la muestra: Influye el tamaño de partícula, su empaquetamiento y los tratamientos previos a los que haya podido ser sometida la muestra.

En el caso de polímeros, las transiciones de importancia son la temperatura de transición vítrea (T_g), la temperatura de fusión (T_m) y la temperatura de cristalización (T_c). [74]

6.4.2. ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

En esta técnica se detectan los cambios de peso de una muestra sometida a un tratamiento térmico. Los experimentos pueden ser medidos por los cambios de peso de la muestra al variar la temperatura.

Para el caso de los polímeros, esta técnica nos brinda información de la estabilidad térmica y se puede utilizar para conocer las posibles transformaciones por encima de la temperatura de la fusión del polímero. [74]

6.5. DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)

El fundamento de la generación de rayos X se basa en la emisión de electrones de un filamento, generalmente de tungsteno los cuales son acelerados por una alta diferencia de potencial (20–50 kV) y golpean un blanco metálico o ánodo que es enfriado con agua. Como el ánodo actúa como blanco de impacto de los electrones acelerados, el ánodo emite en forma continua un espectro de la radiación X ($K\alpha$ y $K\beta$). [75]

Generalmente, la radiación utilizada en DRX es monocromática (de una sola longitud de onda o intervalos de longitud de onda muy cercanos); por tal motivo, se utilizan filtros para eliminar la radiación $K\beta$. [75]

Posteriormente, de acuerdo a la Ley de Bragg, cuando la familia de planos (hkl) de distancia interplanar d_{hkl} forma un ángulo θ con respecto al haz de rayos X incidente de longitud de onda λ , se obtiene el patrón de difracción, es decir, hay un haz difractado al mismo ángulo θ respecto a la familia de planos y 2θ respecto al haz incidente. [75]

Mediante esta técnica obtenemos información de la estructura cristalina o amorfismo del biopolímero.

6.6. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

En el campo de los polímeros, se deben utilizar técnicas capaces de observar la estructura microscópica. La microscopía electrónica de barrido proporciona información morfológica y topográfica sobre la superficie de los sólidos que son normalmente necesarias para entender el comportamiento de las superficies. Así, un análisis por microscopía electrónica es a menudo la primera etapa en el estudio de las propiedades de las superficies de un sólido. [76]

IV. PARTE EXPERIMENTAL

1. REACTIVOS

Biopolímero:

- Alginato de sodio (Algin*), suministrado por Sigma - Aldrich chemistry (United Kingdom).

Agente entrecruzante:

- Cloruro de calcio (CaCl_2), suministrado por RIEDEL – DE HAËN AG SEELZE – HANNOVER (Germany).

Agente Oxidante:

- Metaperyodato de sodio (NaIO_4), suministrado por Sigma – Aldrich chemistry (United Kingdom).

Modificación Química:

- L – Cisteína ($\text{HSCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$), de Sigma - Aldrich Chemistry.
- Borohidruro de sodio (NaBH_4), adquirido de Sigma-Aldrich Chemistry.

Patrón primario:

- Nitrato de plomo ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$), suministrado por MERCK (Germany).

Otros:

- Hidróxido de Sodio (Fermont).
- Ácido clorhídrico (MERCK).
- Solución de $\text{Pb}^{(II)}$ a 1000 ppm (MERCK).
- Cloruro de sodio (Fermont).
- Alcohol etílico 98 % (Fermont, Monterrey S.A).
- Alcohol isopropílico 98 % (Fermont, Monterrey S.A).
- Acetato de sodio (MERCK)
- Ácido Acético 98 % (Sigma – Aldrich)

2. EQUIPOS

- FTIR Perkín Elmer 1001-R
- AAS Perkín Elmer Analyst 200
- Orbital shaker - Wiseshake SHO-2D
- OakTon° pH 700
- NETZSCH STA 449F3 (DSC/TGA - CCIQS UAEM-UNAM - MÉXICO)
- JEOL NeoScope JCM-5000 (SEM – UFSCAR - BRASIL)
- MINIFLEX X - Ray (DRX – USP - BRASIL)
- SDT Q 600 (TGA - USP - BRASIL)
- RMN ¹³C EN ESTADO SÓLIDO - CCIQS UAEM-UNAM – MÉXICO

3. MODIFICACIÓN DEL ALGINATO

3.1. MICROESFERAS DE ALGINATO

3.1.1. ELABORACIÓN DE LAS MICROESFERA

Se prepararon soluciones de alginato al 1 %, 1.5 %, 2 %, 2.5 %, 3 % y 3.5 %. Se elaboró microesferas por gelificación externa, donde se goteó solución de alginato sobre CaCl₂ 0,1 M a 150 rpm. Luego de formarse las microesferas se dejó reposar de 15 – 30 min y se conservaron en una solución de CaCl₂ 0,003 M ^[77].

3.1.2. DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD DE LAS MICROESFERAS

Se pesó microesferas húmedas de alginato, se liofilizó por 24h obteniéndose el peso seco de estas, y se determinó el % de humedad.

3.2. OXIDACIÓN DEL ALGINATO (AlgO)

Se disolvió 2,5 g de alginato de sodio en 100 mL de agua mediante agitación magnética por un periodo de 30 minutos. Se agregó 0,35 M de metaperyodato de sodio (NaIO₄) y se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente por un lapso de 12 horas en total oscuridad.

Luego se agregó 5 mL de etilenglicol y se dejó agitar por 20 min. La solución se precipitó en etanol. Se filtró al vacío y el precipitado se redisolvió en la mínima

cantidad de agua, luego se re-precipitó. Este proceso de purificación se repitió por triplicado. Se llevó a un desecador al vacío por 24 horas. De esta manera se obtuvo el alginato oxidado (AlgO). [26]

3.3. MODIFICACIÓN QUÍMICA CON CISTEÍNA (AlgS)

Se tomó 1,80 g de la muestra obtenida anteriormente y se disolvió en 20 mL de una solución buffer de pH = 4,5 (solución de Acetato/Ácido Acético) y se agregó 0.35 M de Cisteína. Se mantuvo en agitación constante por 5 horas a 25 °C aproximadamente. Finalmente, se adicionó borohidruro de sodio (NaBH₄) 0,45 M en agitación constante, luego se precipitó en etanol, se filtró al vacío y se lavó el producto obtenido (AlgS) con etanol. Se repitió este proceso por triplicado. Se llevó a un desecador al vacío por 24 horas. [24]

4. SORCIÓN

4.1. PRUEBAS DE SORCIÓN DE Pb⁺²

- **Prueba de sorción con microesferas de alginato**

Se pesó 200 mg de microesferas de alginato, las cuales se lavaron con abundante agua desionizada. Estas se colocaron en un conex de plástico que presentaba una solución de Pb⁺² (75 ppm, 150 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm). El pH establecido para la sorción fue entre 4,5 – 5 [61]. El tiempo de agitación fue de 12 h a 120 rpm en un Shaker/orbital. Una vez culminado esto, se tomó una muestra de cada conex y se llevó a dilución x 100. Se analizó el contenido de Pb⁺² en un AAS (Perkín Elmer). Se realizó una gráfica q (retención) vs Concentración (ppm) de Pb⁺². [58, 59, 78]

- **Alginato modificado**

Se pesó 25 mg de alginato modificado, y se colocó en un conex de plástico el cual presentó 50 mL de solución estándar a una concentración de 1000 ppm y se evaluó la sorción a diferentes pH de 2, 3, 4, 5 y 5.5. Una vez identificado el pH adecuado se realizó la sorción a diferentes concentraciones de Pb⁺² (75 ppm, 150 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm) y se agitó en un Shaker/orbital por 24 horas a 120 rpm. Una vez culminado esto, se tomó una muestra de cada conex y se llevó a dilución x100. Se analizó el contenido de Pb⁺² en un AAS (Perkín Elmer). Se realizó una gráfica q

(retención) vs Concentración (ppm) de Pb^{+2} . El precipitado formado se aisló para sus respectivos análisis (AlgS – Pb^{+2}).

4.2. PRUEBAS DE SORCIÓN DE Cd^{+2}

- **Prueba de sorción microesferas de alginato**

Se pesó 200 mg de microesferas de alginato, se lavaron con abundante agua desionizada, y se colocaron en un conex de plástico que presentaba una solución de Cd^{+2} (75 ppm, 150 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm). El pH establecido para la sorción fue de 6 ^[78]. El tiempo de agitación fue de 12 h a 120 rpm en un Shaker/orbital. Una vez culminado esto, se tomó una muestra de cada conex y se llevó a dilución x 100. Se analizó el contenido de Cd^{+2} en un AAS (Perkín Elmer). Se realizó una gráfica q (retención) vs Concentración (ppm) de Cd^{+2} .

- **Alginato modificado**

Se pesó aproximadamente 25 mg de alginato modificado, y se colocó en un conex de plástico el cual presentó 50 mL de solución estándar a diferentes concentraciones de Cd^{+2} (75 ppm, 150 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm) a pH = 6, El tiempo de agitación fue de 12 h a 120 rpm en un Shaker/orbital. Una vez culminado esto, se tomó una muestra de cada conex y se llevó a dilución x100. Se analizó el contenido de Cd^{+2} en un AAS (Perkín Elmer). Se realizó una gráfica q (retención) vs Concentración (ppm) de Cd^{+2} .

5. CARACTERIZACIÓN

5.1. DETERMINACIÓN DEL PESO MOLECULAR

5.1.1. Preparación de soluciones

Sé preparó una solución patrón de 10 000 ppm de alginato en 0,1 M NaCl y se mantuvo en agitación constante por 4 horas. Del patrón preparado se tomaron volúmenes de 10 – 30 mL de la solución y se colocó, en fiolas de 100 mL. ^[71, 72]

5.1.2. Determinación de la viscosidad intrínseca

Las viscosidades se midieron con un tiempo de flujo del disolvente (0,1 M NaCl) de 14,8 s a 25 °C. Todos los tiempos de flujo medidos fueron valores medios de al menos cinco repeticiones.^[71,72]

5.2. ESPECTROSCOPIA INFRARROJO (FTIR)

Los espectros de infrarrojo del alginato se obtuvieron de un FTIR 1001-R (Perkín Elmer) por el método de reflectancia total atenuada donde el intervalo espectral de análisis fue de 600 - 4000 cm⁻¹ ubicado este en el laboratorio de Síntesis de Materiales Avanzados, Micro y Nanomateriales (GISMA).

5.3. DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)

Los difractogramas se obtuvieron en un equipo Rigaku Diffractometer Miniflex X-Ray 30kV/15mA con fuente Cu K α , 1,5418 Å, que se encuentra en el laboratorio de “Química Inorgánica Sintética y Estructural – Bioinorgánica y Metalofármacos” del instituto de Química de la Universidad Sao Paulo – Brasil.

5.4. ANÁLISIS TÉRMICO (TGA/DSC)

Los termogramas de DSC y TGA de las muestras de alginato de partida, AlgO, AlgS y AlgS - Pb⁺² se obtuvieron de NETZSCH STA 449F3 que se encuentra en el Centro de Investigación de Química Sustentable (CIQS) – UAEM – UNAM – México.

5.5. ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

El termograma de las microesferas de alginato se obtuvieron de un equipo SDTQ600 que se encuentra en el Laboratorio de Análisis Térmica, Electroanalítica y Química de Soluciones (LATEQS), que pertenece al laboratorio de química de San Carlos (IQSC), Universidad de Sao Paulo (USP-Brasil).

5.6. ESTUDIOS DE MORFOLOGÍA (SEM)

Las imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) presentadas en este trabajo se obtuvieron de un equipo JEOL NeoScope JCM-5000 ubicado este en la Universidad Federal San Carlos – Brasil.

En la siguiente **Figura.IV.1** observamos las microesferas de alginato obtenidas por reticulación iónica del alginato con 0,1M CaCl₂.



Figura.IV.1. Microesferas al 2,5 % de alginato de bureta y jeringa.

Se realizó el estudio morfológico de las microesferas por microscopía electrónica de barrido (SEM).

5.7. ANÁLISIS ESTRUCTURAL (RMN ¹³C EN ESTADO SÓLIDO)

Las medidas se realizaron en el Centro de Investigación de Química Sustentable (CIQS)
– UAEM – UNAM – México.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

1. CARACTERIZACIÓN DEL ALGINATO DE PARTIDA

1.1. DETERMINACIÓN DEL PESO MOLECULAR

La determinación del peso molecular se calculó por análisis viscosimétrico. Las constantes para la aplicación en la ecuación de Mark – Houwink – sakurada ($[\eta] = KM^a$) se obtuvieron por la **Tabla.III.10.** ^[73]

Los tiempos promedios obtenidos a diferentes concentraciones de alginato son:

Tabla.V.1. Tiempos obtenidos a diferentes concentraciones

	NaCl 0.1M	Alginato (600 ppm)	Alginato (1000 ppm)	Alginato (1500 ppm)	Alginato (2000 ppm)	Alginato (2500 ppm)	Alginato (3000 ppm)
Tiempo (s)	14,8737	17,8616	20,1783	23,5830	27,1666	31,5050	36,3440

Haciendo uso de las ecuaciones presentes en la **Ecuación.III.3** se determinó los valores de las viscosidades para cada concentración:

Tabla.V.2. Viscosidad a diferentes concentraciones

Concentración (g/L)	η (relativa)	η (especifica)	η (reducida)
0,6	1,2008	0,2008	0,3382
1	1,3566	0,3566	0,3601
1,5	1,5855	0,5855	0,3936
2	1,8264	0,8264	0,4145
2,5	2,1181	1,1181	0,4487
3	2,4434	1,4434	0,4825

Una vez calculado los valores de la viscosidad reducida se construyó la recta de Huggins (**Figura.III.27**) que por extrapolación se determina la viscosidad intrínseca ($[\eta]$) para así determinar el peso molecular del polímero.

Construyendo la gráfica Concentración (g/L) vs η reducida (L/g)

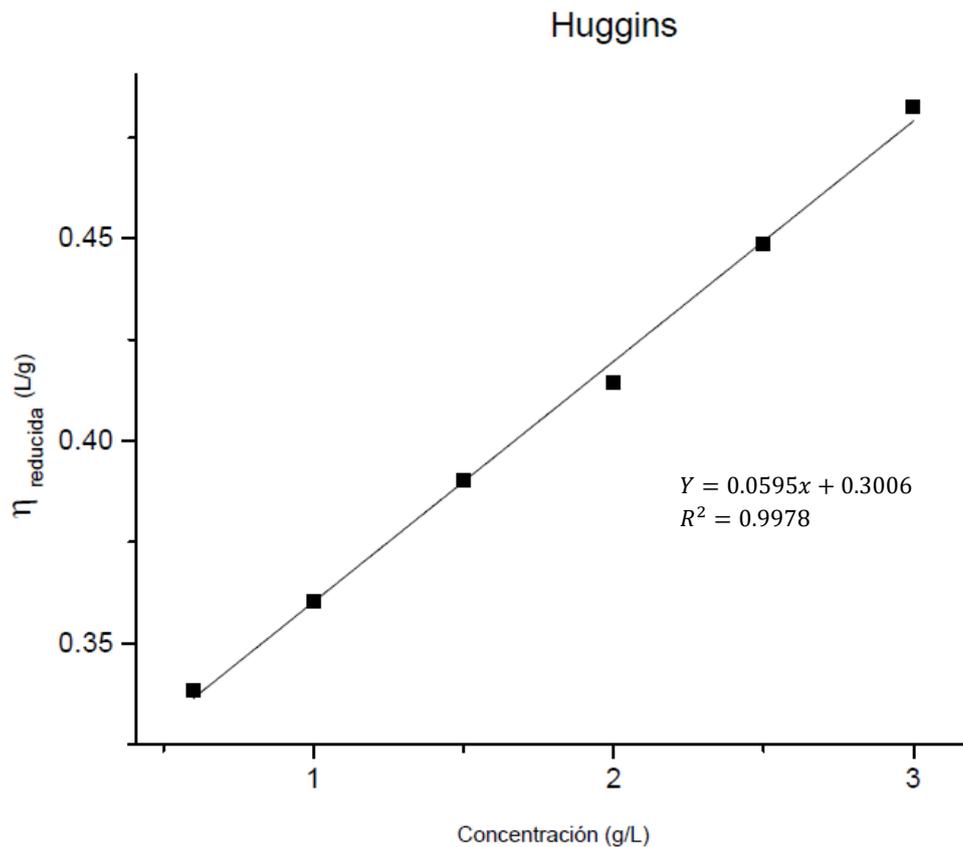


Gráfico.V.1. Recta de huggins del alginato de partida.

Obteniendo por extrapolación de la recta de Huggins (**Gráfico.V.1**) $x = 0$ tenemos que:

$$\eta_{(intrinseca)} = 0,3006 \text{ L/g}$$

Expresando en dL/g la viscosidad será: $\eta_{(intrinseca)} = 3,006 \text{ dL/g}$

En la **Tabla.III.10** los parámetros para el Alginato de Aldrich, ^[70,73] son:

$$k = 7,3 \times 10^{-5} \text{ g/dL} \text{ y } a = 0,92$$

Aplicando *Mark–Houwink–Sakurada*:

$$7,3 \times 10^{-5} M_w^{0,92} = 3,006$$

Peso Molecular obtenido será:

$$M_w = 100 \text{ kDa}$$

El motivo de esta caracterización, es conocer el peso molecular del biopolímero de partida, ya que la modificación química no solamente dependerá del % de grupos urónicos que presenta sino también del tamaño de la cadena polimérica la cual involucra el peso molecular. El peso molecular y el % de grupos urónicos determinan las características fisicoquímicas del biopolímero que ven afectadas la bioactividad, modificación química, gelificación, etc.

Por ejemplo, a una mayor longitud de la cadena los efectos de interacción en la misma se hacen posibles, la tentativa conformación que se forma es la de un ovillo; de esta manera los grupos funcionales no están totalmente libres y por ende afectan no solamente a la solubilidad sino también a la modificación química ya que los grupos funcionales pueden estar formando interacciones intermoleculares en toda la cadena polimérica. Por ende en la medidas viscosimétricas se busca la concentración crítica (concentración adecuada) donde se pueda presentar una tendencia ideal donde la cadena se encuentre libre, desenrollada, para la estimación del peso molecular. ^[71]

Además, debemos tener en cuenta que en cada reacción el alginato sufrirá procesos de despolimerización disminuyendo progresivamente su peso molecular, por ende se debe conocer el peso molecular de partida, esta disminución es directamente proporcional a la viscosidad del biopolímero.

1.2. ESPECTROSCOPIA INFRARROJO

Se obtuvo el espectro del alginato, como se puede observar en el **Gráfico.V.2**. Esta gráfica muestra los picos de los grupos funcionales característicos en la estructura del alginato

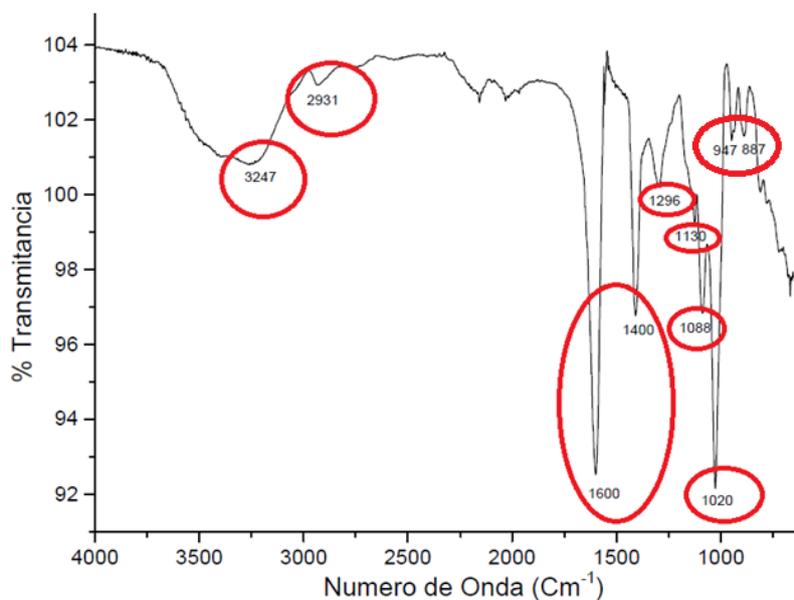


Gráfico.V.2. Espectro FTIR del alginato de sodio.

Como se puede observar el alginato muestra bandas de absorción asignadas a los diversos grupos funcionales que presenta.

Tabla.V.3. Grupos funcionales presentes en el alginato ^[69]

Grupo Funcional	Vibración (cm ⁻¹)	Característica
-OH	3247	Estiramiento
C-H	2931	Tensión
O-C-O	1600	Estiramiento Asimétrico
-OH, O-C-O	1400	Deformación Vibracional, Tensión
C - C -H y O - C - H	1296	Deformación
C-O	1130	Tensión
C-O y C-C (Piranos)	1088	Estiramiento
C-O	1020	Estiramiento
C - O (residuos)	947	Estiramiento

La espectroscopia FTIR permite caracterizar al alginato de partida conociendo los grupos funcionales característicos de este, a que números de onda presenta picos y como estos grupos se mantienen estables o se ven afectados en la modificación química; por ende permite conocer que grupos participan de la reacción o se ven más afectados.

1.3. DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Se obtuvo el difractograma del alginato de partida:

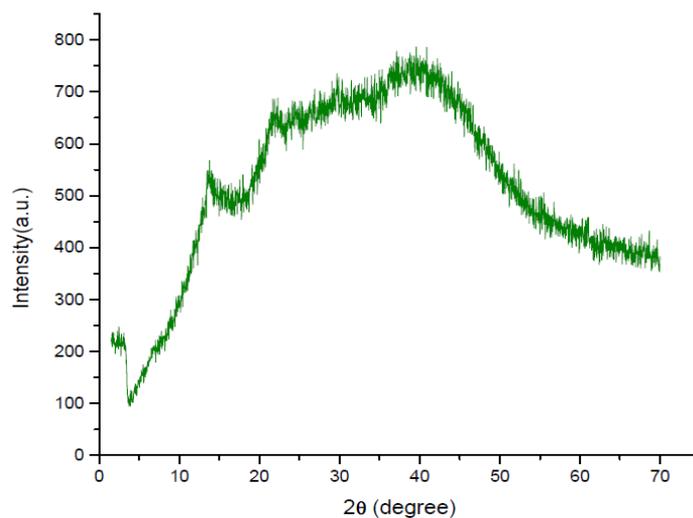


Gráfico.V.3. Difracción de rayos X del alginato de partida.

La presencia en el difractograma de una región amorfa (curva) demuestra el plegamiento, cadenas desordenadas o desalineadas, condiciones comunes debido a las torsiones y dobleces de las cadenas que impiden la orientación, mostrándose en la **Gráfico.V.3** la presencia de picos anchos en su mayoría. Observado esto, se puede inferir la falta de uniformidad y ordenamiento así como la alta flexibilidad, elasticidad del material en análisis. ^[79]

Además el alginato es un copolimero por ende se reduce el grado de cristalización porque el segundo monómero no podrá ajustarse adecuadamente en la red cristalina del primero y, el caso de ser muy diferentes, provoca que la cristalización sea completamente impedida por falta de regularidad estructural. Como también considerar que cierta cristalinidad se puede presentar gracias a la presencia de grupos funcionales estos por su fuerte interacción forman puentes hidrógeno permitiendo realizar un mejor

reordenamiento, siendo en este caso no muy relevante pero aún muy poco diferenciable, presente en los picos débiles que aparecen. ^[19]

Se observa en la **Gráfico.V.3** que, el alginato en polvo no presenta una cristalinidad diferenciable en comparación con otros biopolímeros (**Gráfico.V.4**). Asimismo estos picos anchos que se observan son evidencia clara de que el polímero es amorfo sabiendo también que es un copolímero estadístico reduciendo las posibilidades de su cristalinidad. Los picos poco diferenciables se observan a un $2\theta = 13^\circ, 22^\circ, 40^\circ$.

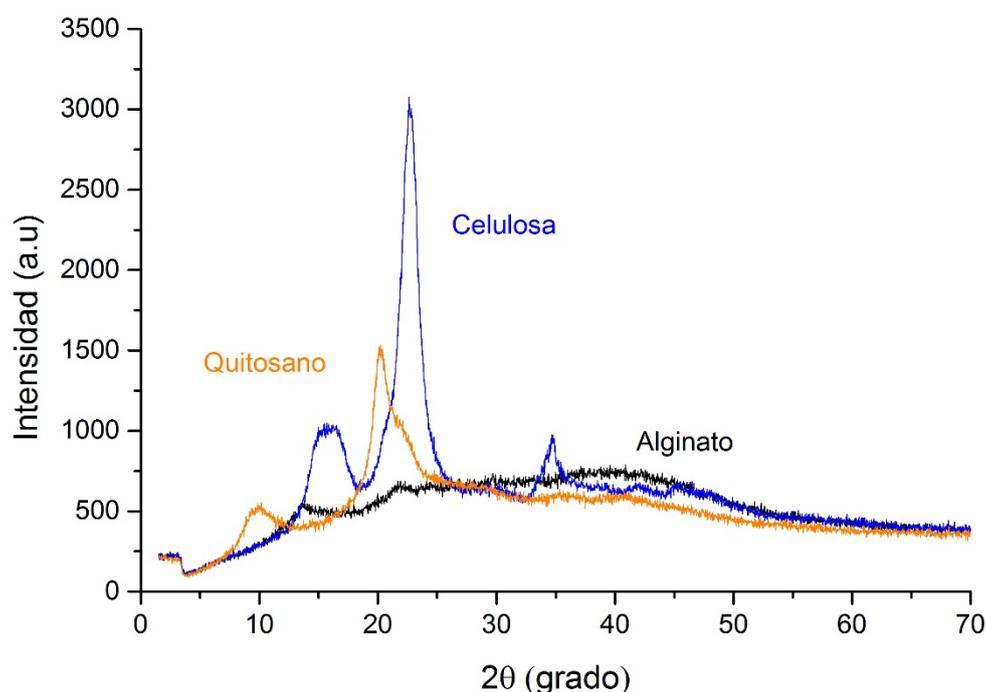


Gráfico.V.4. Difracción de rayos X del alginato, celulosa y del quitosano.

1.4. ANÁLISIS TÉRMICO (TGA/DSC)

El análisis térmico permitirá conocer hasta que temperatura el biopolímero se encuentra estable, sin experimentar degradación térmica, así también los tipos de reacción en la estructura del material debido al aumento de temperatura, posiblemente la escisión térmica de algunos grupos funcionales como el colapso de la estructura. ^[80, 81]

Además en el alginato modificado, se podrá conocer los nuevos picos endotérmicos como exotérmicos debido a la inserción de nuevos grupos funcionales en la red estructural del alginato. En el alginato de partida tenemos:

Por el análisis del termogravimétrico (TGA), la primera pérdida de masa es del 7,04 % próximo a los 100 °C que corresponde al contenido de H₂O.

La segunda pérdida de masa es 35,06 % correspondiendo esto al colapso de la estructura polimérica, ruptura de los puentes glucosídicos (despolimerización) y el tercer decaimiento podría ser la liberación de CO₂ y agua. [80, 81]

Mientras que observamos en el análisis calorimétrico de diferencial de barrido (DSC) 2 picos, el primero es un endoterma a 101,6 °C que se encuentra asociado a la pérdida del agua y el segundo pico a 242,5 °C es un exoterma que en correspondencia con el TGA no solo se debe a la despolimerización sino también a la escisión térmica de los grupos carboxilatos y la evolución de CO₂ [80].

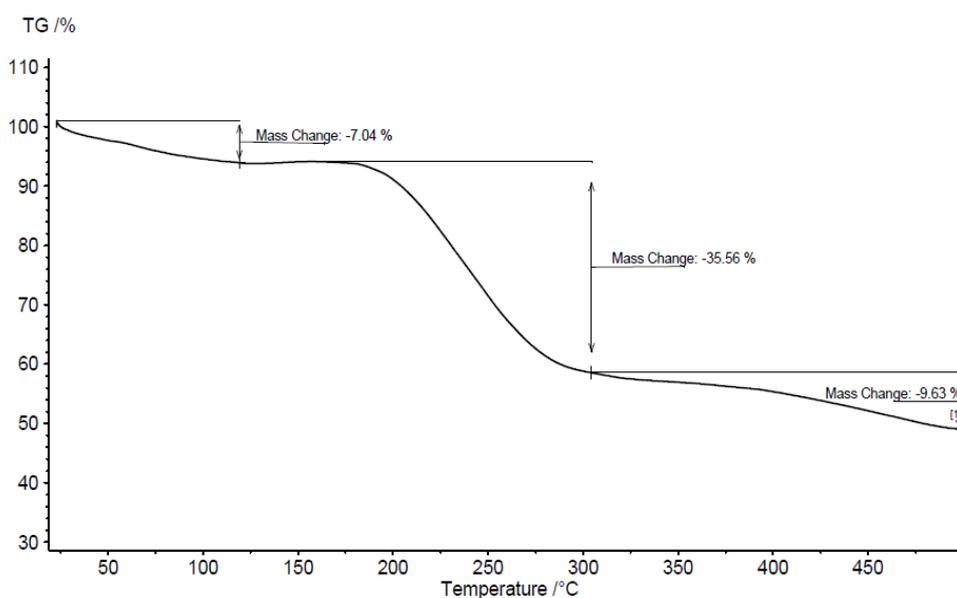


Gráfico.V.5. Análisis TGA del alginato de sodio.

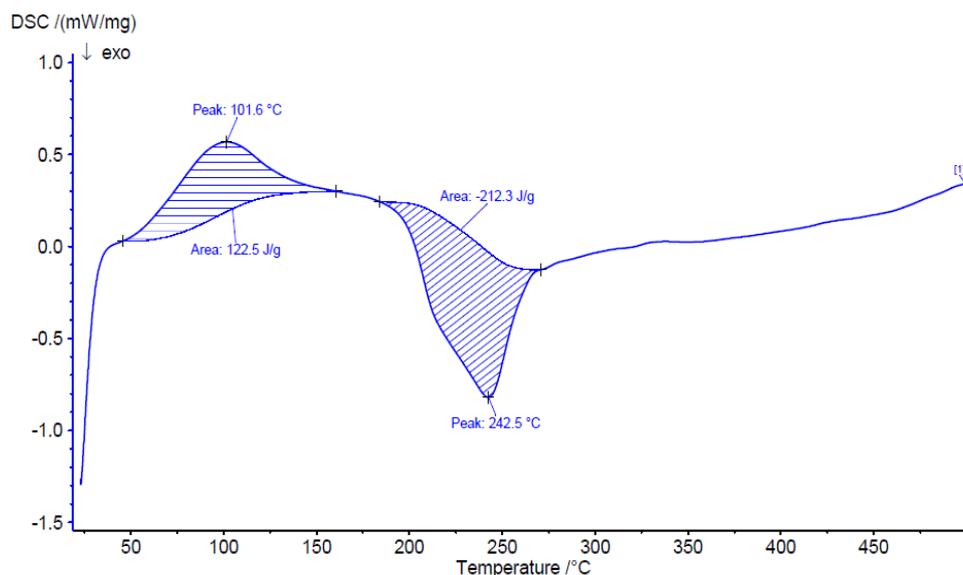


Gráfico.V.6. Análisis DSC del alginato de sodio.

1.5. RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR ^{13}C EN ESTADO SÓLIDO (RMN ^{13}C)

Para el análisis estructural del alginato tenemos el espectro de carbono observado en el **Gráfico.V.7** el cual nos proporciona, según el desplazamiento químico: [63, 66, 67]

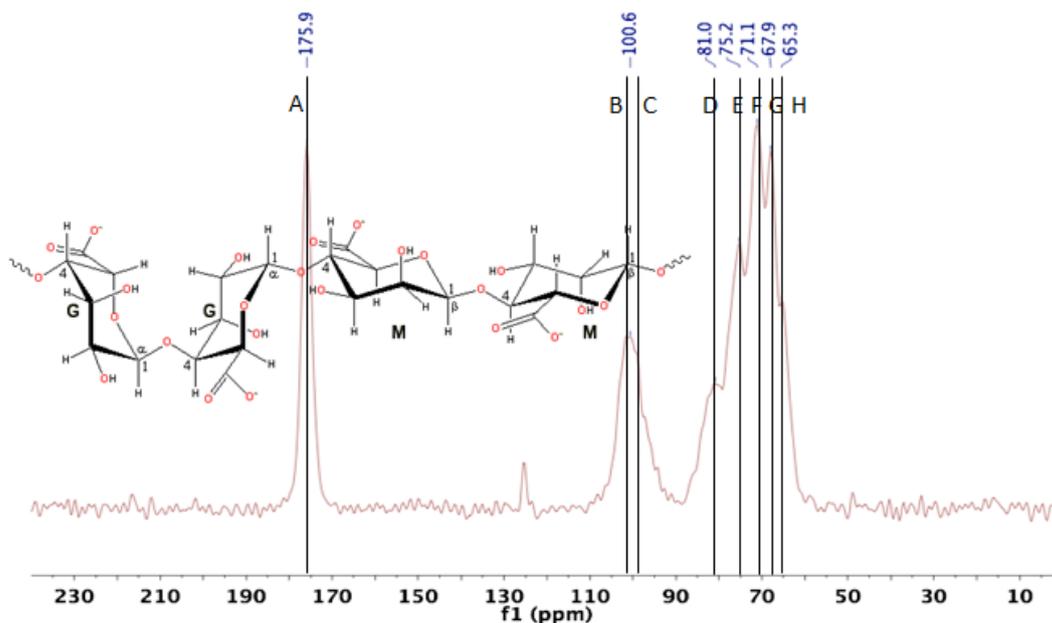


Gráfico.V.7. Análisis RMN ^{13}C en estado sólido del alginato de sodio.

- Los grupos carboxilatos (160 – 180 ppm)
- El enlace glucosídico (90 – 110 ppm)
- El ambiente de la piranosa (50 – 80 ppm)

Ubicamos la señal (pico) que corresponde a cada carbono en el espectro. En la **Tabla.V.4** se muestran los desplazamientos químicos por RMN ^{13}C en estado sólido. [63, 66, 67]

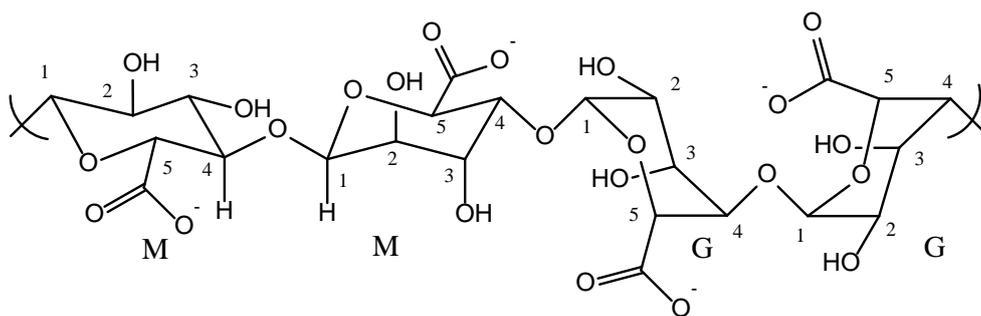


Figura.III.23. Estructura del alginato con cada carbono enumerado.

Tabla.V.4. Asignación de los espectros RMN ^{13}C en estado sólido del **Gráfico.V.7**

RMN ^{13}C												
Notación Figura.III.23	Carbonilo		Anomérico		Piranosa							
	A		B	C	D	E	F	G	H			
X_a	G ₆	M ₆	G ₁	M ₁	G ₄	M ₄	M ₅	M ₃	M ₂	G ₃	G ₅	G ₂
Desplazamiento Químico (ppm)	175,9		100,6	-	81	75,2		71,1		67,9		65,3
Desplazamiento Químico (ppm) ^[66]	176,2		102,2	99,5	82,8	76,4		71,6		68,4		65,5

En la **Tabla.V.4** tenemos los desplazamientos químicos del alginato de sodio en contraste con los obtenidos por T. Salomonsen [66].

X_a es la notación para asignar a un grupo manuronato (M) o guluronato (G) con su respectivo número el cual se refiere a la posición, es decir, G₁ es el átomo de carbono C₁ de la unidad de guluronato.

Observando el espectro de RMN ^{13}C en estado sólido tenemos que:

- La relación M/G es < 1 ^[63] esta respuesta es notable siendo indiferente a las técnicas cuantitativas para la determinación en % de la relación M/G ^[8, 19]. Esto es posible gracias a los picos presentes en la región del carbono anomérico y la piranosa, que presentan para un mayor % de G los picos de B, D, G, H con mayor intensidad mientras que C, E, F son para los grupos M.
- Además en el espectro no hay un gran solapamiento de los picos esto gracias al bajo % de agua presente en el biopolímero (corroborando este con el análisis TGA), ya que este tiende a hidratarse precisamente en los grupos M siendo estos los más susceptibles a interactuar con el H_2O ^[63].
- También tenemos que a un mayor % de G presentamos una mayor rigidez en el biopolímero pues la pérdida de esta se da debido a los cambios químicos que pueden ocurrir en el polímero (despolimerización, ruptura de $\text{C}_2\text{-C}_3$). ^[26]

2. CARACTERIZACIÓN DE LAS MICROESFERAS

2.1. DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Similar al analizado con el alginato de partida, se realizó los análisis a las microesferas obtenidas en el laboratorio, determinando la cristalinidad que pueda presentar. En el **Gráfico.V.8**, tenemos los difractogramas para el alginato de partida, microesfera sin Pb^{+2} (antes de la sorción) y microesfera con Pb^{+2} (después de la sorción).

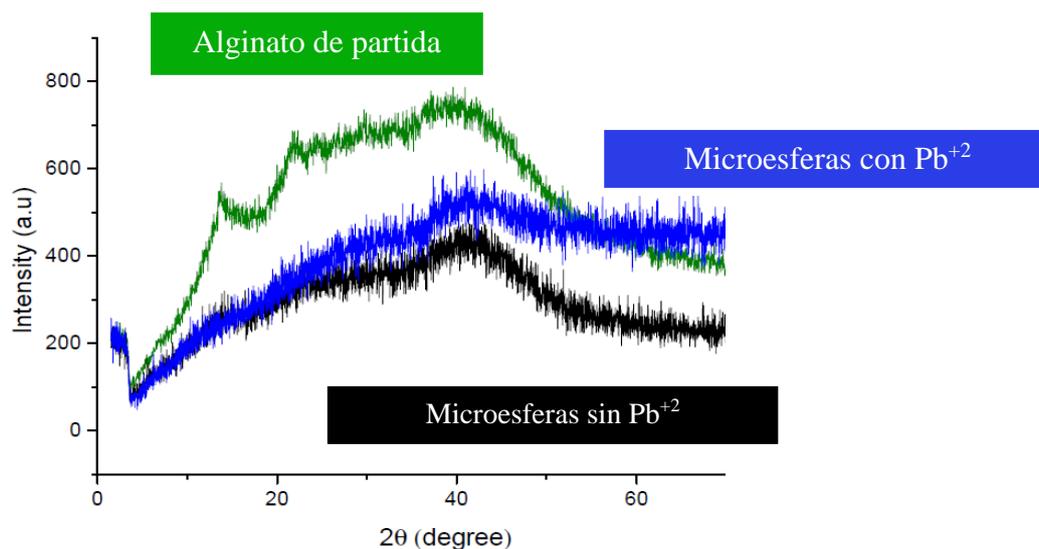


Gráfico.V.8. Comparación de los difractogramas del alginato, alginato de partida, microesferas sin Pb^{+2} y microesferas con Pb^{+2} .

Se observa que la poca cristalinidad o mejor ordenamiento y regularidad que presentaba el alginato al inicio y se pierde al formar las microesferas, esto debido a que en vez de contribuir un metal al ordenamiento del polímero termina por plegar más a esta y deformando más de lo que estaba al inicio ya que el metal debería formar celdillas con los grupos gulurónicos del alginato. Mientras que los grupos manurónicos no brindan esta formación regular y como tenemos que el alginato es un copolímero estadístico podemos tener una interacción en puntos de unión como en la **Figura.III.5** que muestra diferentes casos, donde todos estos pueden estar presentes en 2 cadenas de alginato, a ello con lleva el amorfismo de las microesferas (perlas) no mostrando un pico diferenciabile. En el caso del alginato entrecruzado (alginato con Ca^{+2}) se muestra la aparición de un pico ancho rescatable del difractograma a un $2\theta = 41^\circ$.

Se debe tener en cuenta que las muestras analizadas se encuentran secas en este caso, tanto los alginato entrecruzados con calcio están secos tanto los que presentan Pb^{+2} como los que no.

Asimismo, la microesfera de alginato con Pb^{+2} continua presentando amorfismo en la red polimérica, probablemente exista una competencia entre el calcio (Ca^{+2}) y el plomo (Pb^{+2}) en presentar uniones estables con los carboxilatos del alginato y esto crea una red desordenada para cada metal con diferentes tamaños.

2.2. ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

Aquí tenemos como es la desintegración de la microesfera del alginato:

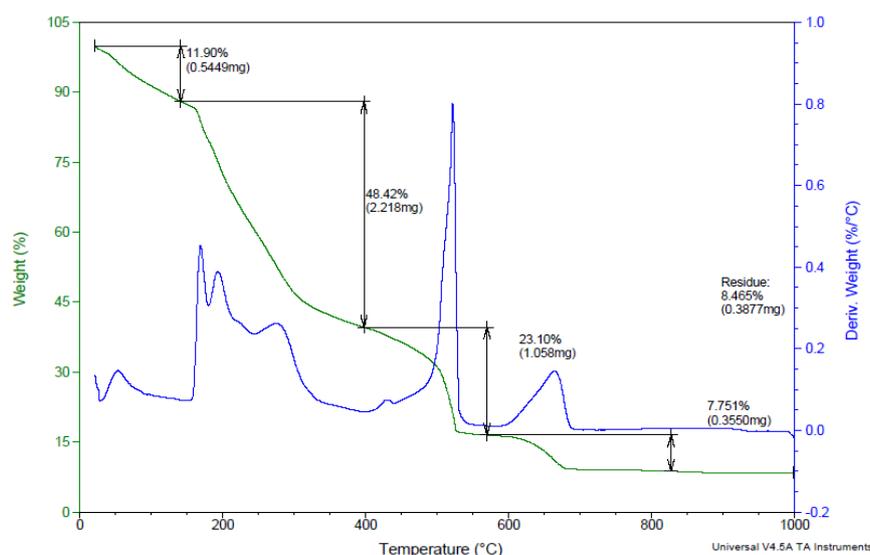


Gráfico.V.9. Análisis térmico del alginato entrecruzado.

En el **Gráfico.V.9** tenemos 4 etapas. La primera comprende la deshidratación de las perlas obteniendo un 11.09 % aproximadamente de agua presente. Esta deshidratación ocurre de 25 °C – 140 °C. Tener en cuenta que para este análisis las microesferas se encontraban secas.

En la segunda etapa, tenemos la descomposición de las perlas, tanto la despolimerización como la conforme ruptura de los enlaces glucosídicos. Esta degradación abarca desde los 170 °C – 400 °C obteniéndose un 48,42 % de material desintegrado. En la tercera etapa ocurre la formación de CaCO_3 y Na_2CO_3 este ultima en poca proporción por la estabilidad, esto se obtiene entre 400 – 570 °C, y un valor aproximado de 23,10 %. Por último la desintegración continua hasta la formación de CaO en consecuencia de CaCO_3 presente 590 °C – 830 °C (7,751 %).

Este análisis determina la estabilidad térmica del alginato entrecruzado con calcio, de aquí como ya se había mencionado, a partir de los 170 °C se observa la pérdida de masa lo que indicaría el colapso de este material, manteniéndose estable hasta 170 °C. Asimismo, se observa que por encima de 400 °C se da la formación de óxido de calcio indicando la presencia de este elemento, a diferencia del alginato de partida (**Gráfico.IV.5.**)^[80, 81]

2.3. ESTUDIO MORFOLÓGICO DE LAS MICROESFERAS DE ALGINATO POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

En las siguientes figuras tenemos las microfotografías realizadas a las perlas sin cargar (alginato entrecruzado con CaCl_2).

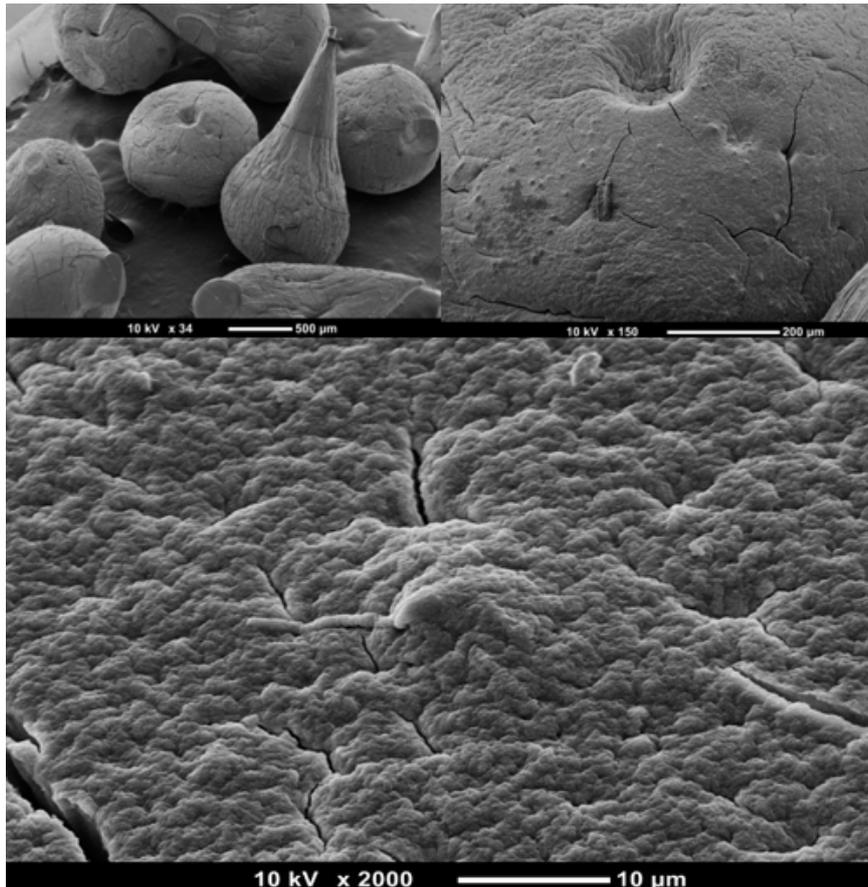


Figura.V.1. Microfotografías de las microesferas de alginato sin Pb^{+2} (500 μm -10 μm).

En la **Figura.V.1** y **Figura.V.2** tenemos las microfotografías de las microesferas de alginato. Debemos tener en cuenta que las fotografías se realizaron a las microesferas secas.

Como se puede observar, la **Figura.V.1** y **Figura.V.2** muestra una superficie irregular, rugosa y por lo tanto una extensa área superficial, además son evidentes las fisuras que presenta. Todas estas características suman para la interacción con los iones Pb^{+2} en la sorción, tanto la superficie de la microesfera como posiblemente otros procesos como la difusión cuando la microesfera se encuentra húmeda (lo que mencionamos como intercambio iónico).

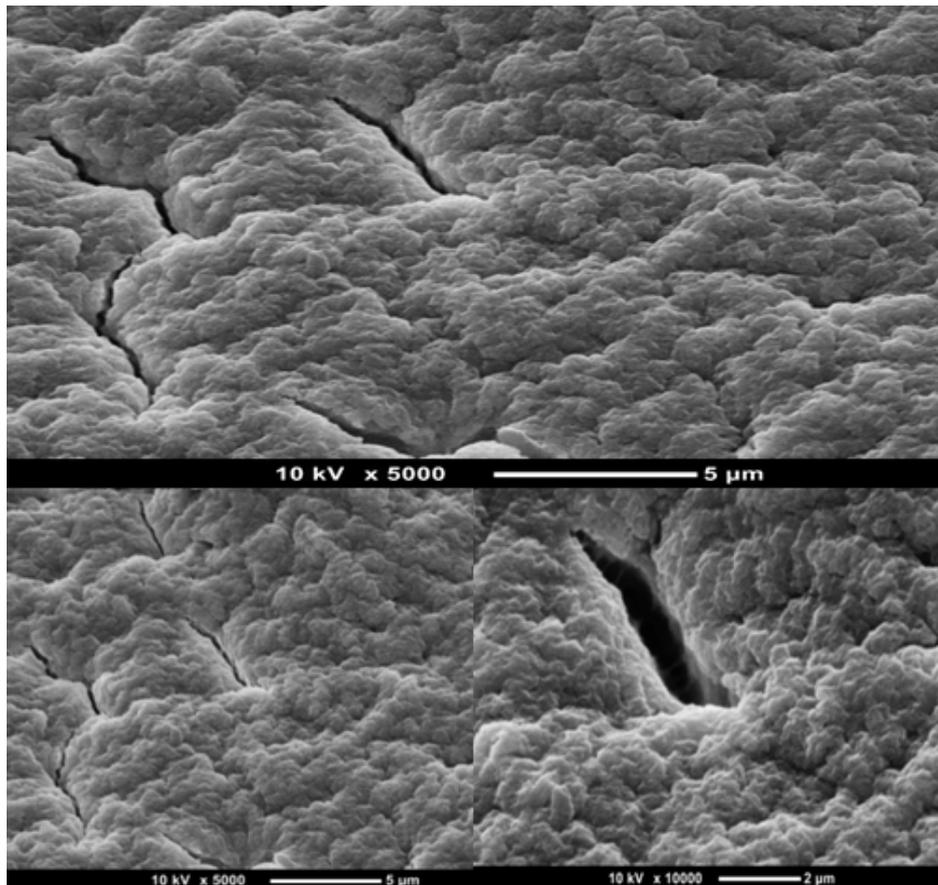


Figura.V.2. Microfotografías de las microesferas de alginato sin Pb^{+2} (5 μm-2 μm).

Como hemos mencionamos, las imágenes obtenidas del SEM muestran la morfología de las perlas, una superficie rugosa, y fisuras las cuales participarían en el proceso de intercambio iónico y/o adsorción de algún compuesto en la superficie o dentro del material.

Las siguientes figuras se tratan de las perlas de alginato cargadas con Pb^{+2} :

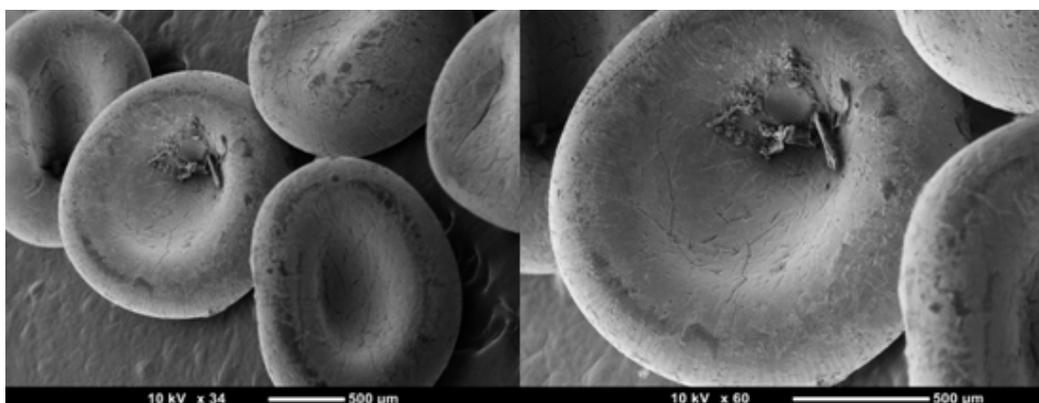


Figura.V.3. Microfotografías de las perlas de alginato con Pb^{+2} (500μm).

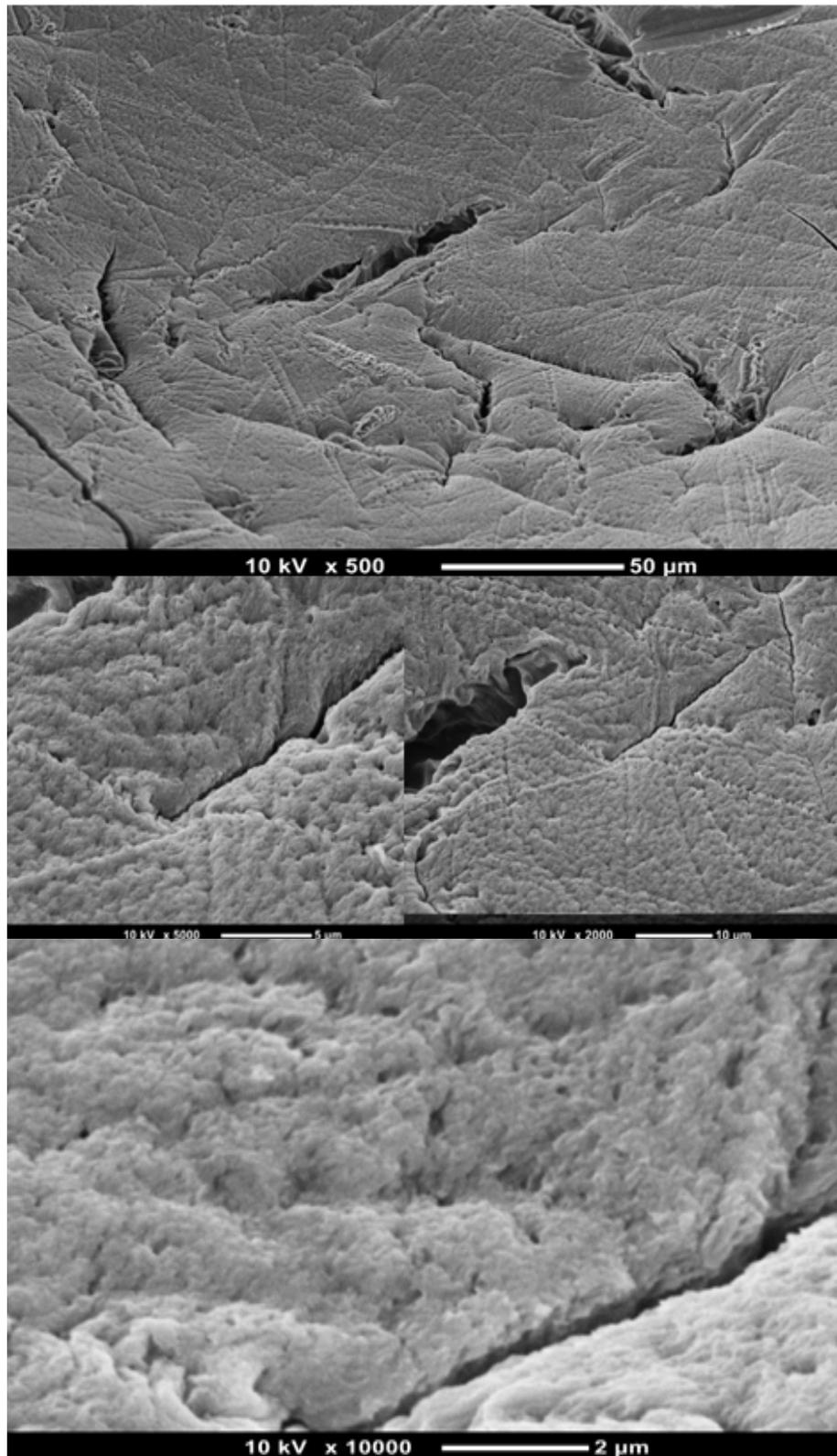


Figura.V.4. Microfotografías de las perlas de alginato con Pb^{+2} (50μm-2μm).

En la **Figura.V.3** y **Figura.V.4** podemos observar que a una medida de 500 μm la superficie de las perlas cargadas a simple vista se encuentra lisas mientras que a 50 μm ya aparecen algunas fisuras. En comparación con las microesferas cargadas se observa que estas presentan fisuras notándose desde los 500 μm , lo cual difiere con las cargadas con plomo. Además la superficie de las microesferas luego de la sorción de Pb^{+2} , es más lisa a comparación de las microesferas antes de la sorción.

La superficie lisa que se observa, es debido a la afinidad del tamaño del ion (intercambio del ion entrecruzante) en este caso el Pb^{+2} es más afín que el Ca^{+2} en las microesferas. Además cierta contracción observada en la **Figura.V.3** y **Figura.V.4**, a diferencia de las microesferas sin carga (**Figura. V.1** y **Figura. V.2**) es debido al secado ya que se cuenta con un material con alto % de H_2O , pero más estable en presencia de iones Pb^{+2} que con Ca^{+2} , ya que para este último las cavidades son más grandes. ^[82]

Por ende este cambio de las características superficiales es producto de la interacción en la superficie y del intercambio iónico que presenta las microesferas de alginato con los iones Pb^{+2} .

3. MODIFICACIÓN QUÍMICA DEL ALGINATO

3.1. OXIDACIÓN DEL ALGINATO (AlgO)

La oxidación del alginato se llevó a cabo por el ataque del peryodato de sodio a una solución de 2,5 % de alginato. La reacción es conocida como “Reacción de *Malaprade*” en donde el peryodato provoca la ruptura del enlace $\text{C}_2 - \text{C}_3$ formando de esta manera grupos aldehídos. Debemos tener en cuenta que la reacción se realiza a oscuras previniendo la reducción del peryodato. Además el control del oxidante se realizó añadiendo etilenglicol reduciendo el peryodato a yodato. La oxidación en biopolímeros involucra también la despolimerización de este.

En la **Figura.III.8** observamos la formación de grupos aldehídos. En este caso la formación de aldehídos por medio de esta oxidación es factible pero debido a los grupos funcionales presentes en el alginato se lleva a cabo una reacción secundaria. Los grupos aldehídos formados son muy inestables y rápidamente reaccionan con los alcoholes vecinos en la estructura polimérica, formando así grupos hemiacetales.

En medio ácido es rápido la protonación del enlace anhidroglucosídico y este puede retornar a un grupo aldehído, por ende un método de los ya existentes para la determinación indirecta del grado de oxidación es la titulación potenciométrica. Para la determinación del grado de oxidación se realizó esta reacción formando oximas producto de la reacción con clorhidrato de hidroxilamina [28], tal como se puede observar en la reacción en la **Ecuación.III.1**.

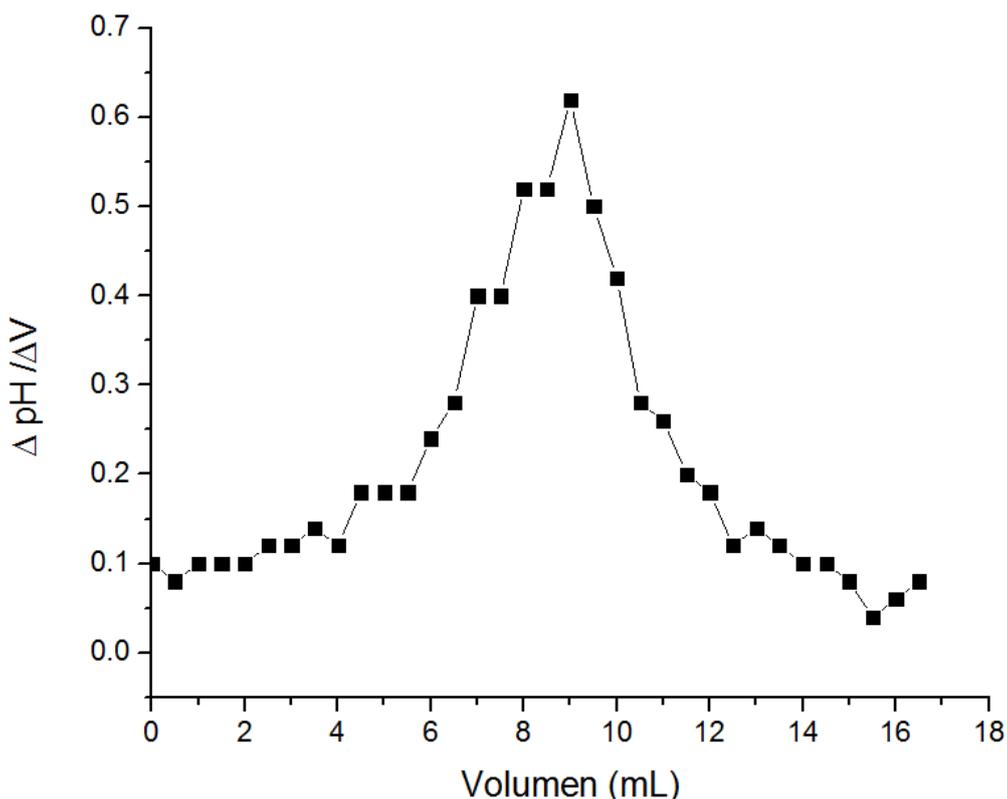


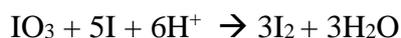
Gráfico.V.10. Análisis potenciométrico.

$$\frac{(Vol \text{ en mL}_{NaOH} \times N_{NaOH}) \times 10^{-3} mol}{Masa \text{ de la muestra}(g) \times (Mw \text{ Alginato})} = \frac{mol \text{ de CHO}}{mol \text{ de Alginato}}$$

Ecuación.V.1. Determinación del grado de oxidación

En el **Gráfico.V.10** el análisis potenciométrico muestra un pico máximo al cual por estequiometria (**Ecuación.III.1**) se logra determinar un 90 % de grado de oxidación.

Análisis volumétrico por titulación de iodo consumido estimo un 70 % de Grado de Oxidación por estequiometria.



Ecuación.V.2. Reacción de reducción del yodato

Una vez obtenido el AlgO prosigue el proceso de precipitación en este caso se utiliza un solvente no polar siendo el adecuado para este caso el alcohol etílico/isopropílico.



Figura.V.5. AlgO sintetizado.

La oxidación en la modificación es conveniente ya que buscamos funcionalizar con grupos tiolados al alginato de sodio, por ende necesitamos activar a este biopolímero. En términos coloquiales la oxidación del alginato de sodio es un *punte* para la funcionalización obteniéndose como primera etapa gracias a esto, la formación de grupos aldehídos del C₂ y C₃ del alginato, aprovechando su alta reactividad y fácil aminación con el agente modificante (cisteína).

3.1.1. CARACTERIZACIÓN DEL ALGINATO OXIDADO

Como hemos venido observando la caracterización del alginato mediante técnicas FTIR, RMN ¹³C en estado sólido, titulación potenciométrica, permiten demostrar que grupos funcionales se ven afectados por el ataque del peryodato de sodio; Asimismo, conocer el grado de oxidación (% G.O). Los análisis térmicos indicaran hasta que condiciones trabajar con el material antes de su descomposición, como la aparición de nuevos picos endotérmicos y exotérmicos debido a la formación de nuevos enlaces y ruptura de otros.

3.1.1.1. ESPECTROSCOPIA INFRARROJO

Se obtuvo el espectro del AlgO, como se puede observar en el **Gráfico.IV.11**. Esta gráfica muestra los picos de los grupos funcionales característicos en la estructura del AlgO.

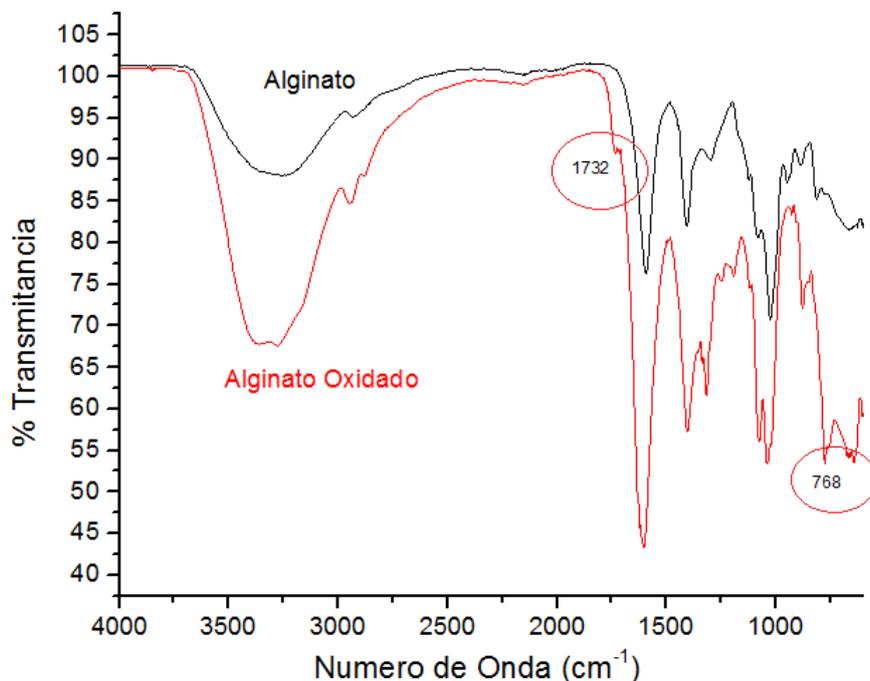


Gráfico.V.11. Espectro FTIR por el método ATR del AlgO.

En el espectro anterior tenemos la aparición de algunos picos no presentes en el alginato de partida, por ejemplo a 1732 cm^{-1} tenemos la vibración de tensión del grupo $\text{C}=\text{O}$ posiblemente de restos de formaldehído formado producto de la oxidación, además tenemos el pico a 768 cm^{-1} que corresponde a la vibración de deformación plana del grupo $=\text{C}-\text{H}$ este presente al formarse el grupo aldehído. En este caso las señales obtenidas por el FTIR no nos brindan una clara elucidación de la presencia de grupos aldehído, y es de esperar ya que trabajos precedentes indican que existe un mecanismo de protección y desprotección de los grupos aldehídos (obtenidos por la oxidación) con los alcoholes vecinos, formando de esta manera grupos hemiacetales (**Figura.III.9**).^[27]

3.1.1.2. ANÁLISIS TERMICO (TGA/DSC)

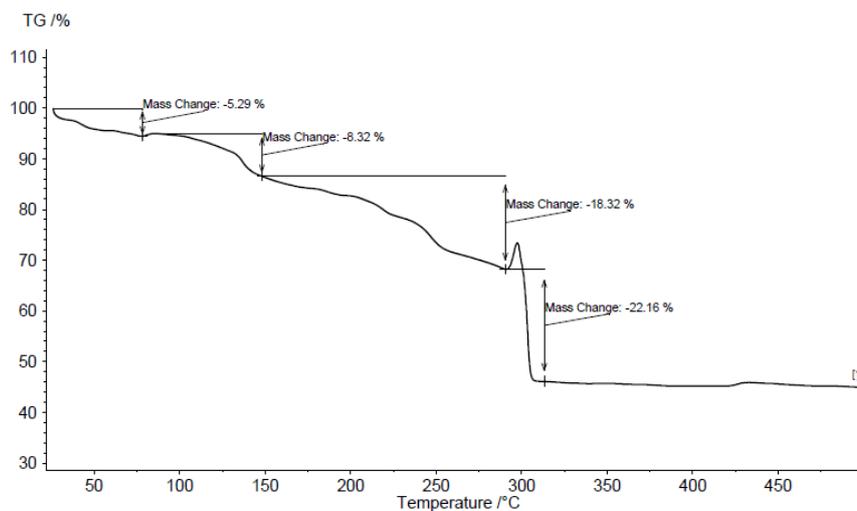


Gráfico.V.12. Análisis TGA del Algo.

En el **Gráfico.V.12** observamos 4 decaimientos en pérdida de masa. Para el análisis del TGA, la primera pérdida de masa es del 5.29 % que corresponde al contenido de H₂O. La segunda pérdida de masa es de 8.32 % la cual correspondería a la continua deshidratación. El tercer decaimiento es una pérdida de masa de aproximadamente 18,32 %. Como se observa las curvas de decaimiento no son muy pronunciadas por lo que podemos afirmar que se trata de una descomposición por multietapas, donde los productos intermedios no son estables; además observamos una pequeña elevación al culminar esta etapa. La pequeña elevación se trataría de una perturbación del equipo. La cuarta pérdida de masa es del 22,16 % que correspondería al colapso completo del biopolímero asimismo el decaimiento es pronunciado, afirmando así que se trata de una descomposición.

Para su DSC presentamos 4 picos **Gráfico.V.13**, el primer pico es un endoterma a 136,1 °C que se encuentra asociado con la pérdida del agua. Los dos siguientes picos a 219,7 °C con un área de 94,46 J/g y 247,7 °C con un área de 163,9 J/g, son exotermas y se obtienen de la descomposición múltiple, en la tercera pérdida de masa (TGA). Así también el pico a los 247,7 °C del oxidado comparado con el DSC del biopolímero de partida (242,5 °C) presenta un exoterma con un área de 163,9 J/g. Comparando las áreas de estos dos exotermas y su proximidad en la temperatura, podemos afirmar que se trataría de la escisión del grupo carboxilato, y como las medidas de las áreas son

cercanas respalda el hecho que la reacción de oxidación es relativamente selectiva al ataque de la piranosa. [80]

La última etapa es un exoterma a 299,8 °C con un área de 426,8 J/g, que correspondería a la despolimerización, degradación térmica, evolución de CO₂, además que este último exoterma no aparece en el DSC del biopolímero de partida lo que con lleva a pensar que se trata de un nuevo enlace posiblemente de los grupos aldehídos/hemiacetales formados por la oxidación.

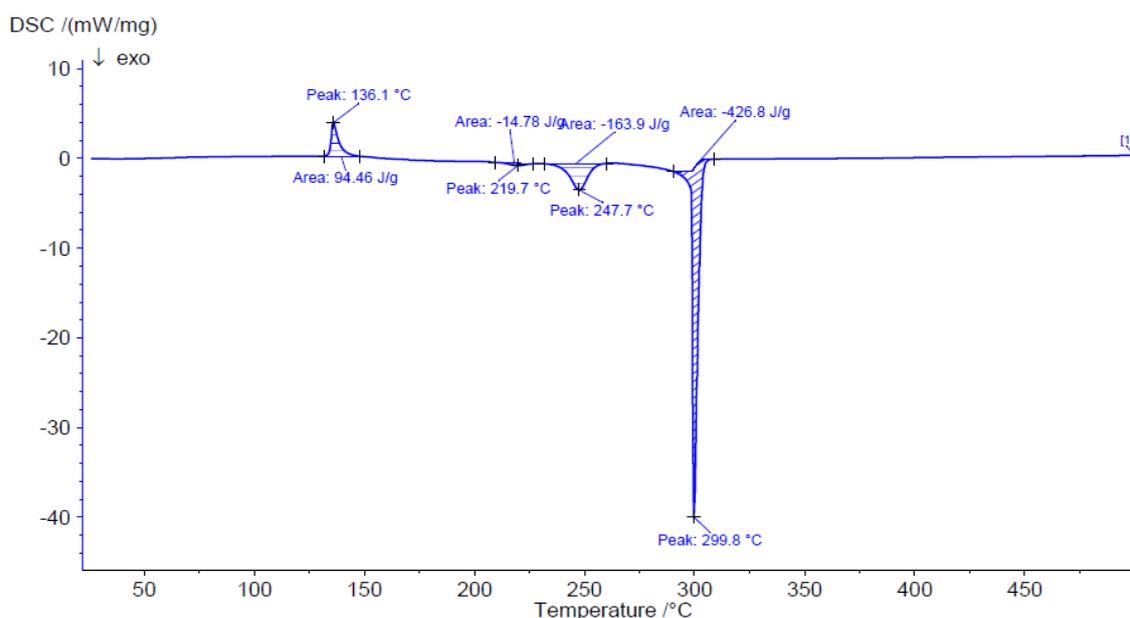


Gráfico.V.13. Análisis DSC del Algo.

3.1.1.3. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR ¹³C EN ESTADO SÓLIDO (RMN ¹³C)

En el **Gráfico.V.14** tenemos el espectro de RMN ¹³C. Observamos que las intensidades de algunos picos disminuyen, lo que indica que la oxidación no solamente afecta a la ruptura C₂-C₃, en la despolimerización del alginato (ruptura del enlace anhidroglicosídico) sino también es selectiva hacia la oxidación del grupo G (gulurónico) [80].

En el espectro observamos que los picos de B, D, G, H disminuyen en intensidad. Estos picos ya no se pueden apreciar en el espectro. Los grupos aldehídos formados en la oxidación no se observan en el espectro de RMN ¹³C del oxidado; asimismo las técnicas

como el FTIR no logran visualizar diferenciablemente estos picos. Este problema es debido a la reacción en gran parte de los grupos aldehídos con los alcoholes vecinos presentes en la estructura que continua de la cadena polimerica, como ya se mencionó anteriormente. [62, 67]

Se presenta la formación de hemiacetales, siendo estos los que se observan en el espectro RMN ^{13}C donde el carbono del hemiacetal se observa a los 92,2 ppm. De esta manera se garantiza la oxidación del alginato de sodio. [67]

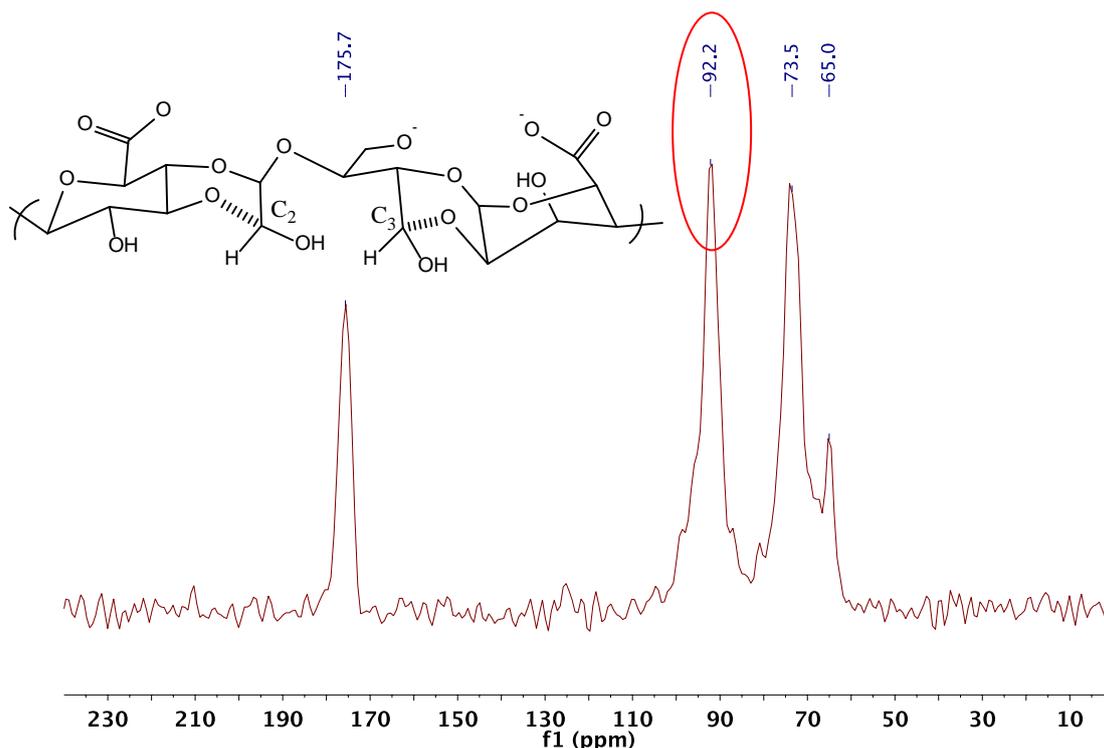


Gráfico.V.14. Análisis de RMN ^{13}C en estado sólido del AlgO.

Tabla.V.5. Desplazamientos de ^{13}C RMN del **Gráfico.V.14** [67]

Desplazamiento Químico (ppm)	Carbono (Correspondiente a la Figura.II.23)
175,7	G ₆ , M ₆
92,2	Posibles señales de hemiacetal: G ₂ ,G ₃ y M ₂ ,M ₃ (mínimo)
73,5	M ₄ ,M ₅ ,M ₃ ,M ₂
65	G ₂

Del **Gráfico.V.14** hemos considerado los picos más relevantes para discutir el espectro, ya que a diferencia con el de partida, tanto las señales de los carbonos: G₂ y G₄ disminuyen drásticamente comparadas con las señales de los carbonos de los grupos manurónicos (M), esto es debido a la preferencia en la oxidación de los grupos Gulurónicos (G).^[26] Asimismo, no son apreciables las señales de los carbonos G₃ y G₅ ya que estas se encuentran muy próximas a las del G₂ y debido a los picos anchos que muestra la técnica de RMN en estado sólido, son más difíciles de interpretar.

3.2. MODIFICACIÓN QUÍMICA CON CÍSTEINA

Esta etapa consistió en la adición de la cisteína, para este caso se diluyó completamente el AlgO en un tampón buffer de Acetato/Ácido acético (pH = 4,5). Una vez realizado esto, se procedió a añadir el aminoácido en este caso solución de cisteína 0,45M dejándose agitar por 2 horas, luego de esto se agregó una mínima cantidad de NaBH₄ (s).

El medio estable permite que los grupos funcionales presentes en el aminoácido y el AlgO interaccionen en los diversos puntos de unión buscando generar un compuesto estable.

Las condiciones de trabajo en medio ácido promueven a la formación de una interacción entre el grupo amino presente en el aminoácido y el carbono del grupos aldehído. El agente reductor actúa como protector del aminoácido y busca mantener la interacción Carbono – Nitrógeno del aldehído y de la amina del aminoácido.

Finalmente, se precipitó en etanol/alcohol isopropílico, se filtró al vacío y se lavó el producto. Debemos considerar que cuando se agregó la solución de cisteína al AlgO, se observó un cambio de color (siendo el color blanco/amarillo muy pálido el de partida, pasando a un tono más oscuro y por último a un color blanco manteniéndose en este), además se observa que inmediatamente se eleva la temperatura. Estas manifestaciones en la reacción no solamente indican la formación de nuevos enlaces en la modificación del alginato sino también la posible formación de impurezas, despolimerización, ciclación de la cisteína, oxidación de los tioles, etc.



Figura.V.6. Síntesis del AlgS.

3.2.1. CARACTERIZACIÓN DE LA CISTEÍNA

La caracterización de la cisteína busca conocer las condiciones adecuadas para trabajar con este aminoácido, asimismo discriminar los picos característicos en el FTIR y relacionarlos con la modificación química del alginato.

3.2.1.1. ESPECTROSCOPIA FTIR

Se obtuvo el espectro de la cisteína en el **Gráfico.IV.15**. Esta gráfica muestra los picos de los grupos funcionales característicos de la cisteína.

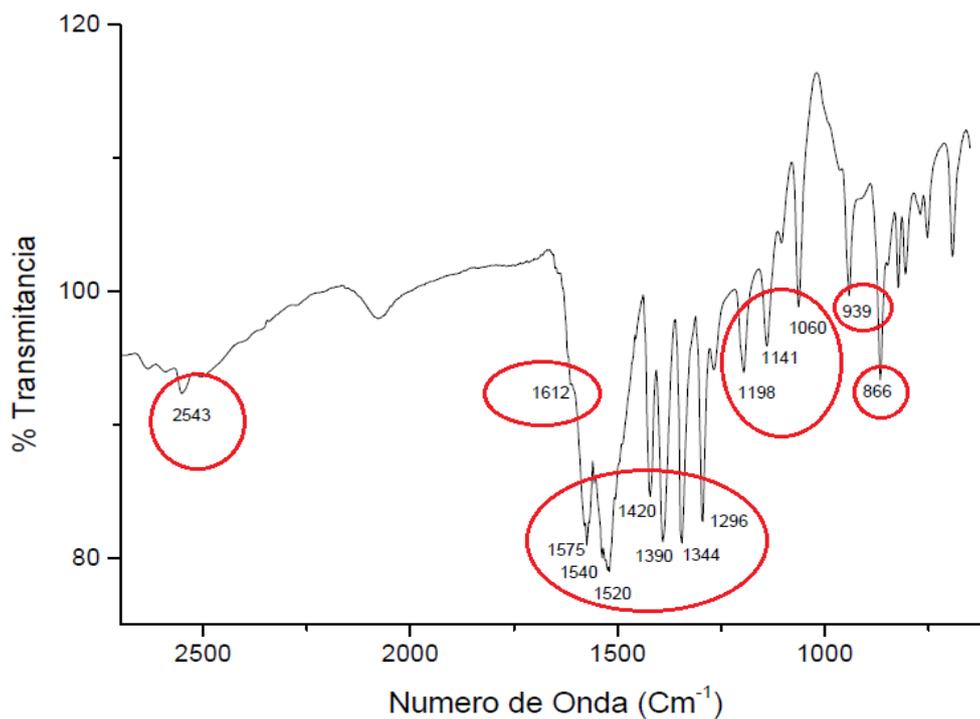


Gráfico.V.15. Espectro FTIR de la cisteína.

Tabla.V.6. Grupos funcionales con sus respectivas vibraciones ^[83]

Grupo Funcional (Vibración)	Pico (cm ⁻¹)
νNH_3^+	Picos anchos por arriba de 3000
νSH	2543
$\delta_a \text{NH}_3^+$	1612
$\nu_s \text{COO}^-$	1575
$\delta_a \text{NH}_3^+$	1540
$\delta_s \text{NH}_3^+$	1520
δCH_2	1420
$\nu \text{CC} \ \& \ \delta \text{CH}$	1390
δCH	1344
$\delta \text{CH} \ \& \ \nu_s \text{COO}^-$	1296
νCH_2	1198
$\rho^\perp \text{NH}_3^+$	1141
νSH	939
νCC	866

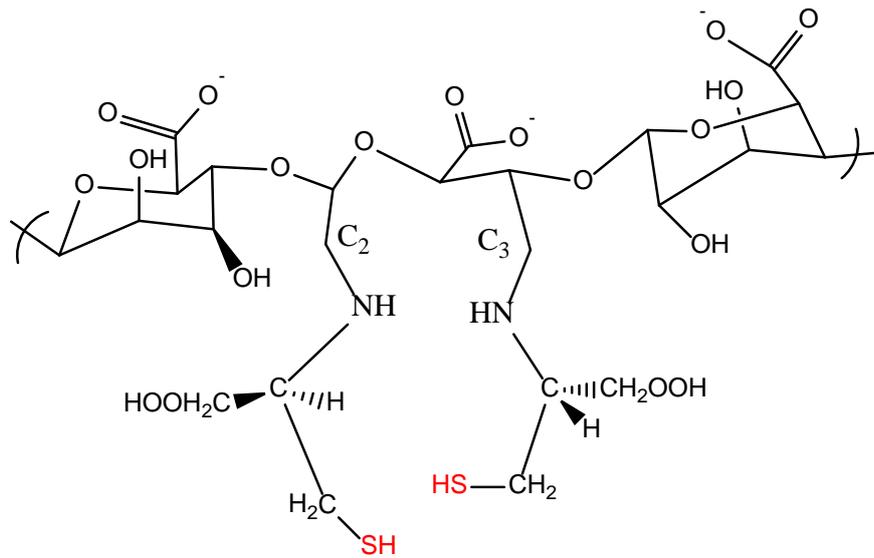


Figura.V.7. Propuesta del alginato modificado con cisteína (AlgS).

3.2.1.2. DETERMINACIÓN DEL PUNTO ISOELÉCTRICO (P.I)

En la siguiente gráfica tenemos el P.I donde la cisteína no presenta carga, por ende no es soluble a este pH. ^[45]

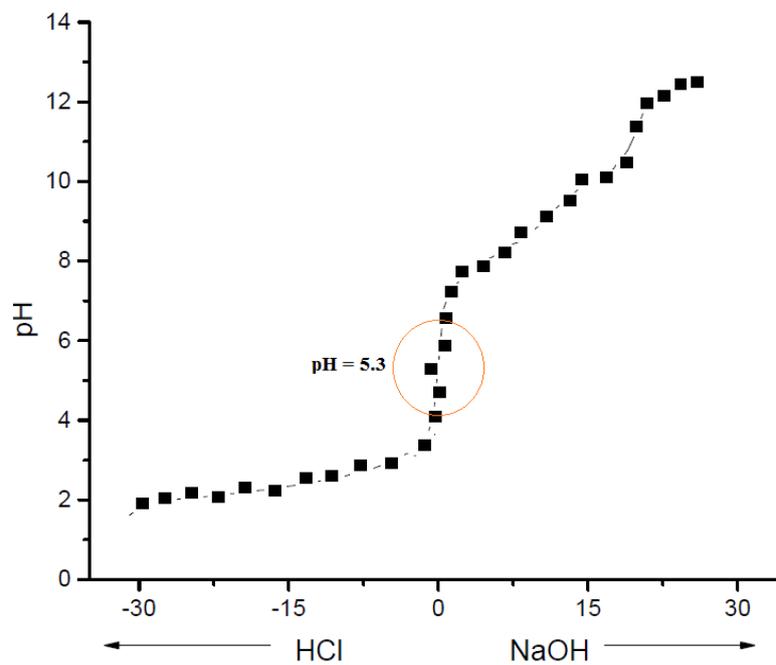
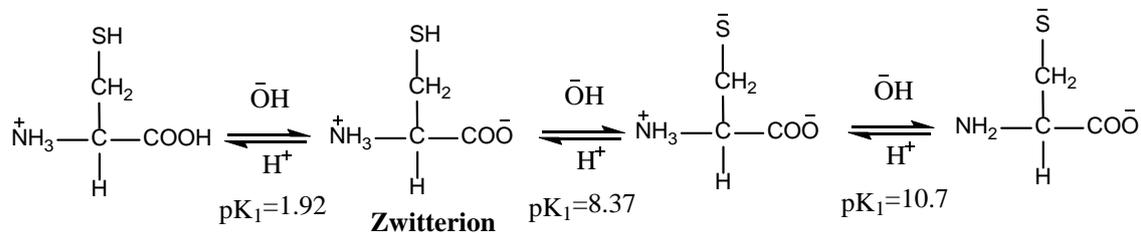


Gráfico.V.16. P.I de la cisteína.

El punto isoelectrico se determina debido a que en el proceso de síntesis de la modificación química, la reacción debe estar alejada por encima o por debajo del P.I, para evitar la precipitación de la cisteína.



Ecuación.V.3. Reacción de ionización de la cisteína ^[45]

En la **Ecuación.V.3** se puede observar las reacciones de ionización de la cisteína, por ende en el **Gráfico.V.16** se encuentra el P.I siendo 5.3 y para evitar la cristalización de la misma, se trabaja a un pH alejado de este valor.

3.2.2. CARACTERIZACIÓN DEL ALGINATO MODIFICADO

3.2.2.1. ESPECTROSCOPIA FTIR

Se obtuvo el espectro del AlgS en el **Gráfico.V.17**. La siguiente gráfica muestra las diferencias de los espectros del alginato modificado (AlgS) con el alginato de partida, alginato oxidado (AlgO) y la cisteína.

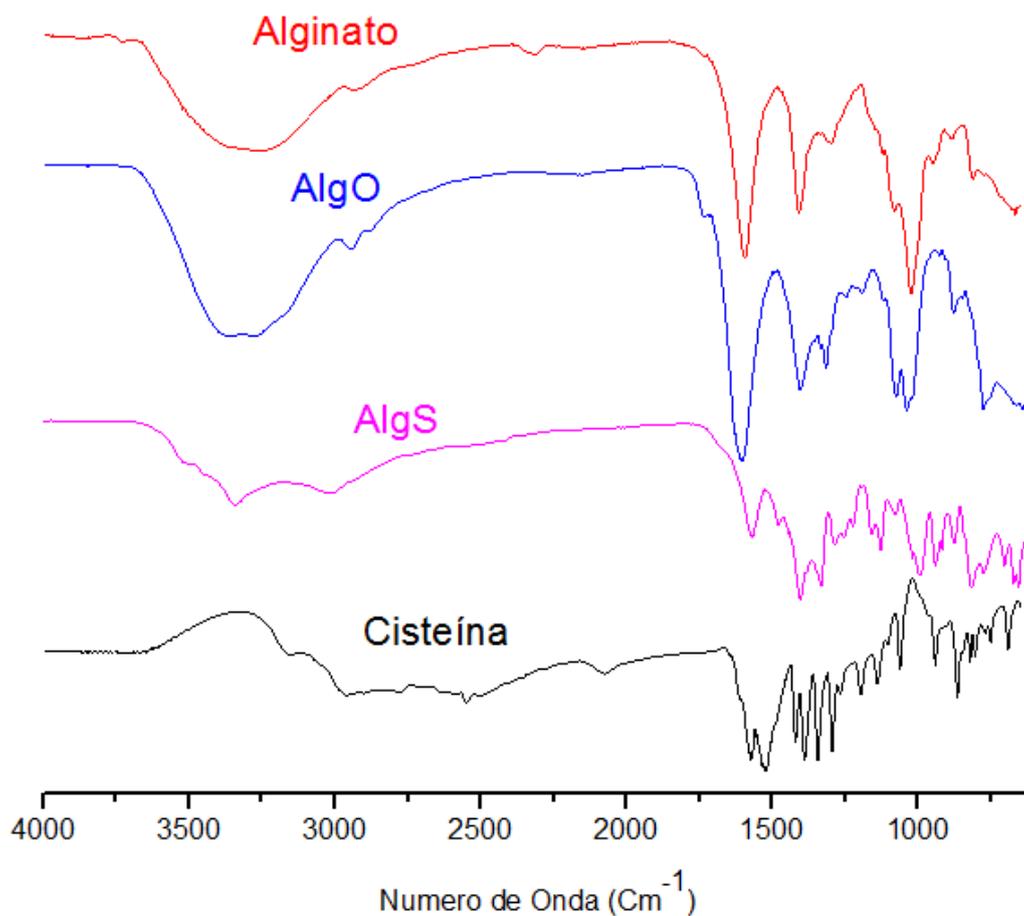


Gráfico.V.17. Comparación de los espectros FTIR de la cisteína, AlgS, AlgO y del alginato.

En el **Gráfico.V.17** observamos claramente la variación de picos desde el alginato de partida hasta el AlgS, debido a la modificación química con cisteína.

Tabla.V.7. Grupos funcionales con sus respectivas vibraciones del AlgS

Grupo Funcional (Vibración)	Pico (cm ⁻¹)
ν OH	3502
ν NH ₂	3335
ν CH ₂	3000
ν C=N	1675
ν N-H	1570

$\delta_s \text{NH}_3^+$	1485
νCOO^- (asimétrico)	1402
$\nu \text{C-O-C}$ (Simétrico)	1080
$\nu \text{C-O-C}$ (Anti simétrico)	1021
νSH	940

3.2.2.2. ANÁLISIS TERMICO (TGA/DSC)

En el **Gráfico.V.18** observamos 3 decaimientos en pérdida de masa.

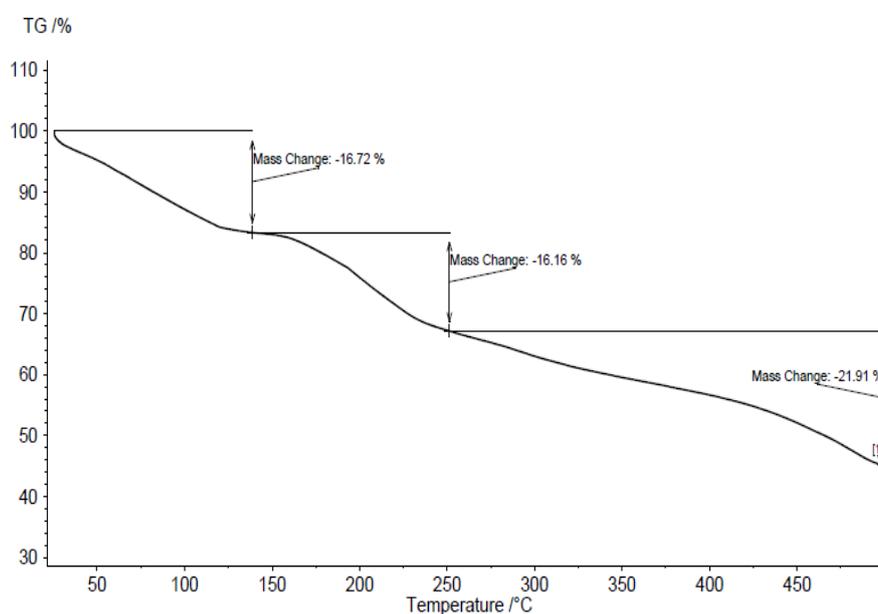


Gráfico.V.18. Análisis TGA del AlgS.

Para el análisis del TGA, la primera pérdida de masa es de 16,72 % que corresponde al contenido de H_2O y gases que posiblemente se liberan al medio, producto de la descomposición térmica. La segunda pérdida de masa es del 16,16 %, como se observa las curvas de decaimiento no son muy pronunciadas lo que puede indicar que no se trata solamente de un compuesto, además la pérdida de masa es muy baja en el tramo $150\text{ }^\circ\text{C} - 250\text{ }^\circ\text{C}$ lo que podría proponerse en conjunto con el DSC (**Gráfico.V.19**) una descomposición térmica en nuevos productos y/o fusión mientras que la pérdida de masa en gases sea aquella que se cuantifica. El tercer decaimiento correspondería al entorno polimérico que sufre la pérdida de masa por liberación de CO_2 ya que el porcentaje sigue siendo muy bajo (21,91 %) además la caída no es pronunciada.

En el DSC del AlgS (**Gráfico.V.19**) observamos que presenta 5 picos, todos los picos son endotermas lo que indicaría como propuesta la posible modificación mediante un enlace imínico y parte que podría reaccionar como una interacción eléctrica producto del efecto isoestérico de la cisteína. El primer endoterma que observamos se da a los 49,9 °C e inmediatamente tenemos otro endoterma a los 58,6 °C; asimismo, observamos que las dos curvas se sobreponen, por ende a 49,9 °C podría atribuirse a una reacción de termólisis (descomposición térmica) y el producto inmediatamente propaga una segunda reacción a los 58,6 °C, interpretándose como una descomposición de esta.

La siguiente curva a los 90,9 °C sería la deshidratación (fusión del agua). El siguiente pico a 194,9 °C podría indicar otra descomposición térmica y/o fusión de la sal mientras que el pico que continúa podría atribuirse a un reordenamiento.

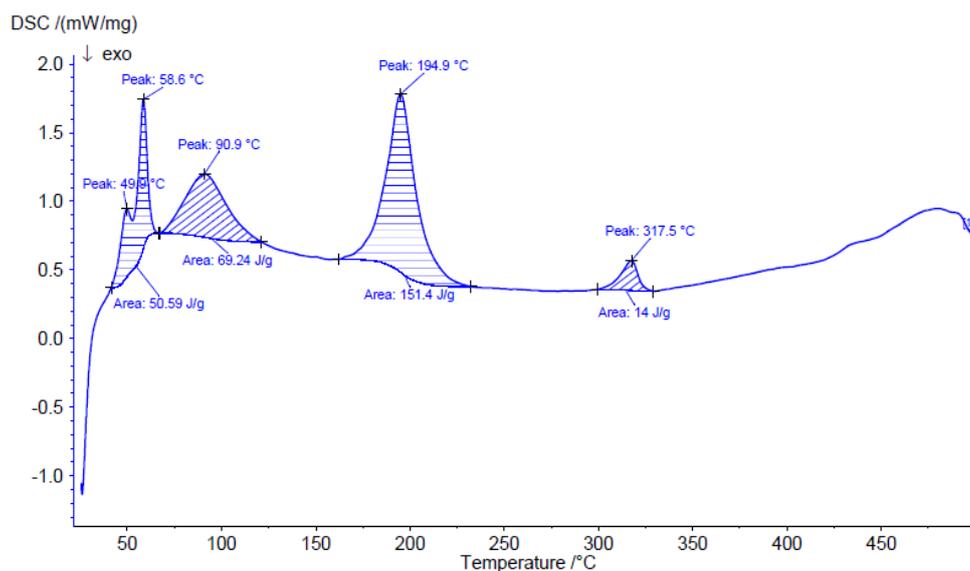


Gráfico.V.19. Análisis DSC del AlgS.

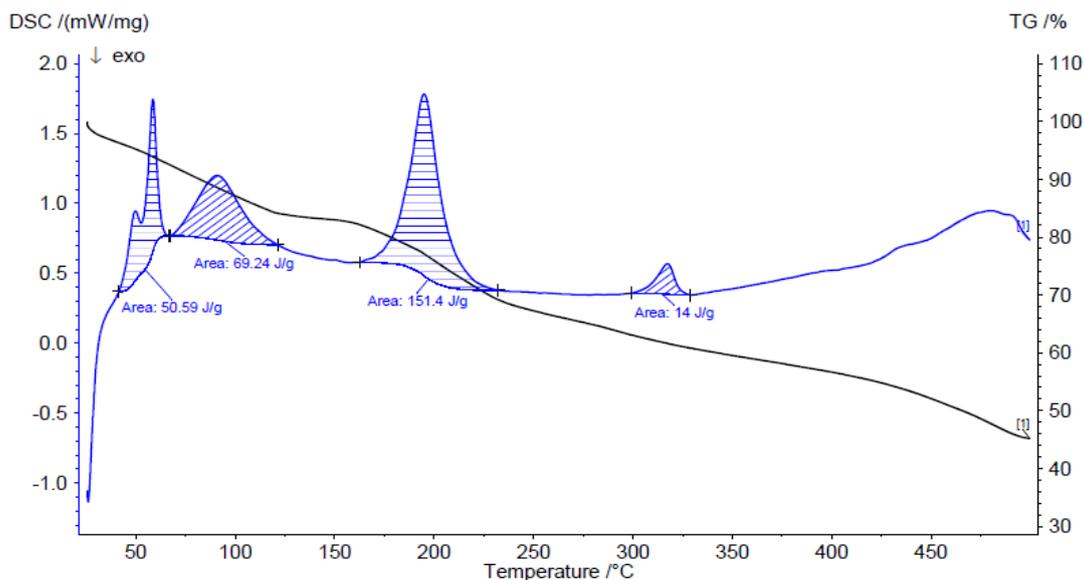


Gráfico.V.20. Termogramas de DSC/TGA del AlgS.

3.2.2.3. RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR ^{13}C EN ESTADO SÓLIDO (RMN ^{13}C)

Debido a que el producto que se obtuvo era altamente insoluble en diversos solventes (**Tabla.V.8**) se recurrió a la RMN ^{13}C en estado sólido (**Gráfico.V.21**). Esta particularidad posiblemente es debido a un alto grado de entrecruzamiento de las cadenas poliméricas, ya que la modificación química le brinda al alginato grupos funcionales de la cisteína. Mediante este espectro podemos observar de manera muy definida la presencia de cisteína, donde los picos en su mayoría son de esta, posiblemente debido a que gran parte de la cisteína cristalizó en el medio como exceso; asimismo, esta se encuentra en el producto en alguna de sus formas iónicas. Observamos los picos: 174,8 ppm; 53,3 ppm y 35,1 ppm. Los picos que aparecen por debajo de 35,1 ppm como el 28, 25, 24 ppm podrían ser tanto los valores de la cisteína debido a sus diferentes formas iónicas como se observa en el **Gráfico.V.21** y además que la señal a 35 ppm podría ser un desplazamiento del carbono $-\text{CH}_2-$ de la cisteína, ya que algunos grupos tiol pueden presentar interacciones tipo puente disulfuro con otras cisteínas.^[84]

Debemos también considerar que la técnica de RMN de ^{13}C en estado sólido no solamente brindara información de los carbonos presentes en la muestra sino también, la

presencia de picos muy próximos en una señal que denota la presencia de al menos dos formas cristalinas (polimorfismo) en este caso alguna otra disposición geométrica de los carbonos presentes (25 ppm, 24 ppm).^[85] Debemos señalar que los picos próximos de 170 – 180 ppm serían tanto del carbono del grupo $-\text{COO}^-$ de la cisteína y posiblemente del alginato. Esta no es la única posibilidad que se puede plantear para la modificación con cisteína.^[86] Al momento con este espectro no podemos afirmar la presencia tanto de alginato y cisteína en la modificación ya que las señales del alginato (en este caso de la piranosa) no se observa o las señales son muy mínimas para ser apreciadas (100 – 65 ppm).

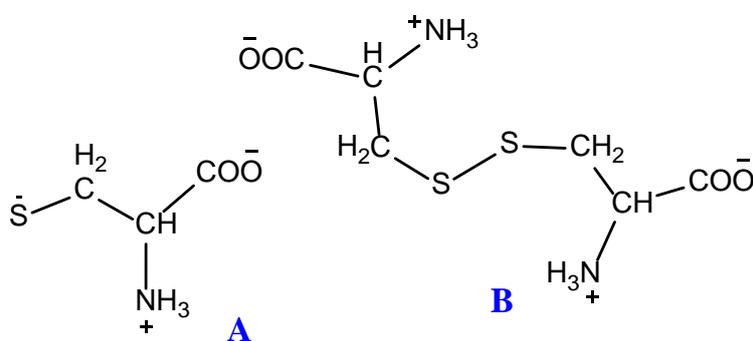


Figura. V.8. (A) Estructura de la cisteína ionizada, (B) estructura ionizada de la cistina.

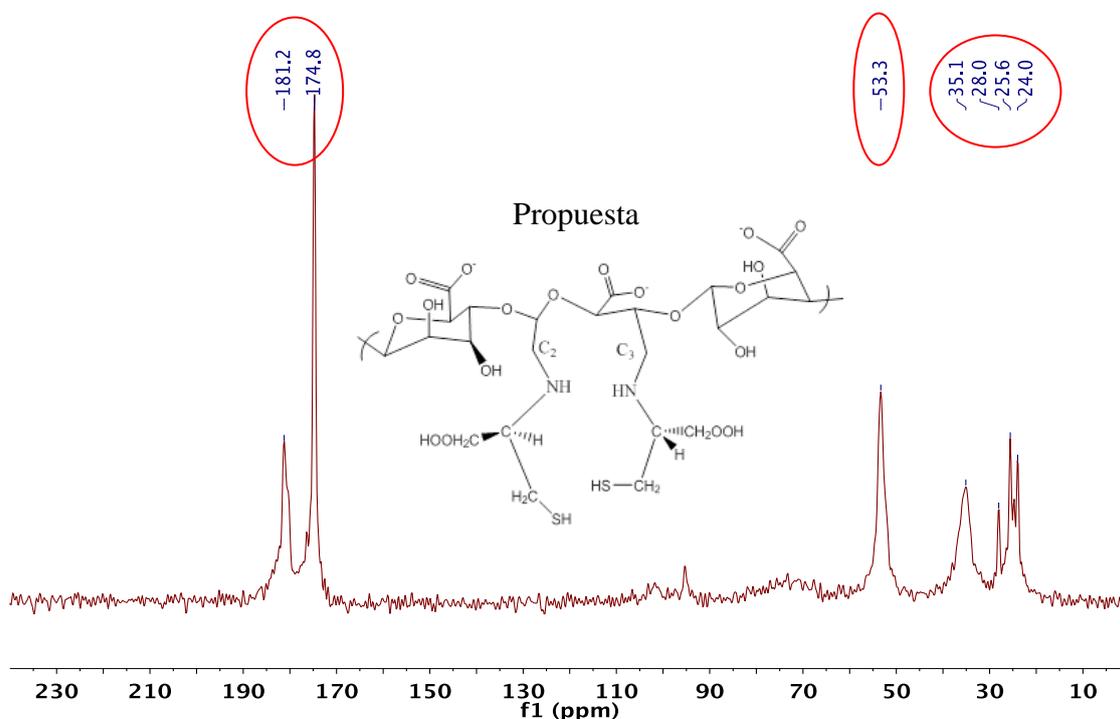


Gráfico.V.21. Análisis de RMN ^{13}C en estado sólido del AlgS.

Tabla.V.8. Solubilidad de AlgS

Solvente	AlgS (g)	V_{solvente} (mL)	Solubilidad
H₂O	0,0030	3	- - +
DMSO	0,0030	3	- - -
Acetona	0,0030	3	- - -
DMF	0,0030	3	- - -
Etanol	0,0030	3	- - -
Metanol	0,0030	3	- - -
Acetonitrilo	0,0030	3	- - -
Tolueno	0,0030	3	- - -
Tetrahidrofurano	0,0030	3	- - -
n-hexano	0,0030	3	- - -

Debemos tener en cuenta que en las reacciones de azúcares y aminos es común observar como propuesta la formación de bases de schiff que solo forman parte de una etapa de la reacción global, las cuales involucran la formación de compuestos que presenten color y olor. Este tipo de reacción se llama “Reacción de maillard”. La reacción de maillard son una red compleja de reacciones. Además que las condiciones para disminuir la formación de esta reacción varían desde el buffer (pH), el tipo de azúcar en este caso el alginato y el aminoácido, este tipo de reacción es la causante de los olores y el constante cambio de color que puede presentarse en la reacción. ^[87]

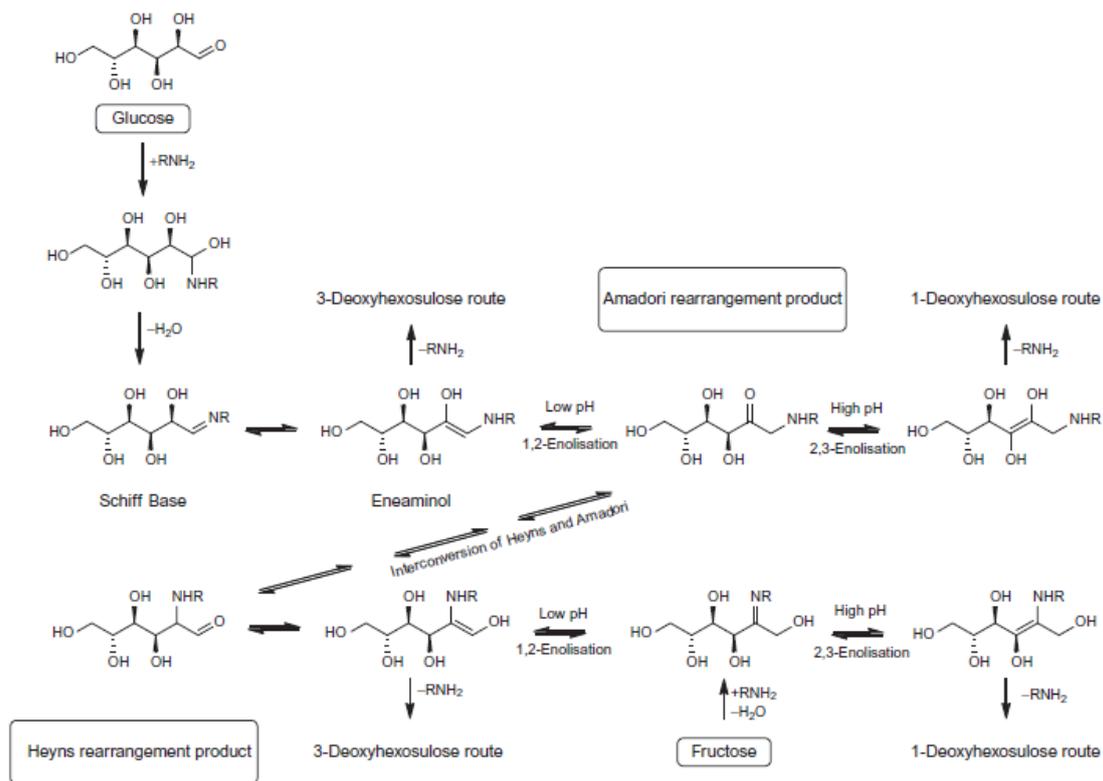


Figura.V.9. Reacción de maillard por etapas. [87]

Esto es un inconveniente ya que de esta manera se pierde reproducibilidad del método además es algo que se debe prever y tener en cuenta (reacción en multietapas).

Otro inconveniente que puede surgir, es la racemización de la cisteína:

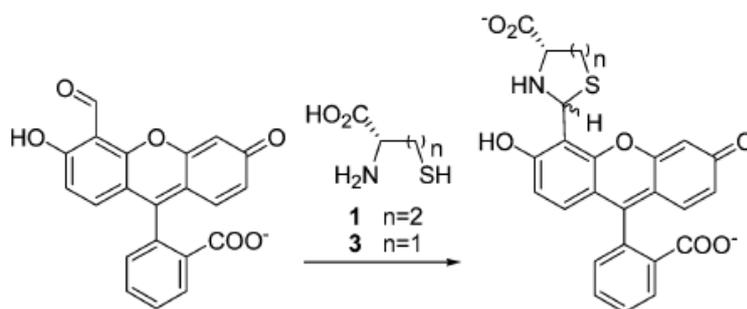
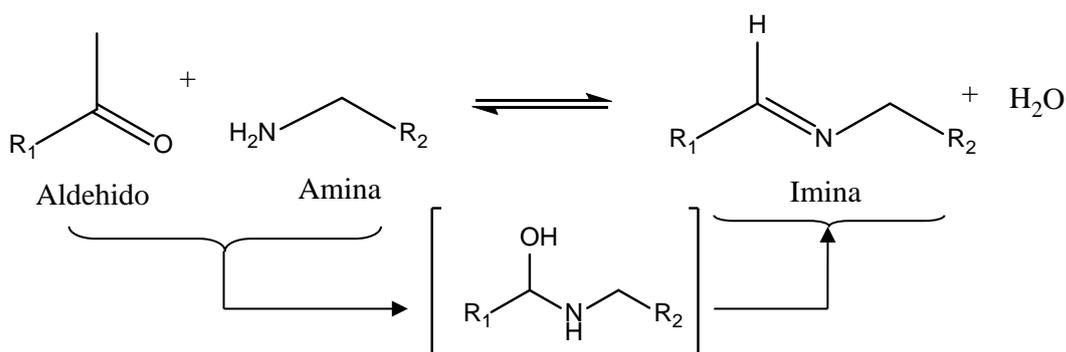


Figura.V.10. Reacción de racemización de la cisteína. [88]

Este caso se da por una reacción tipo adición formando una tiazolidina, la cual depende mucho de las condiciones tanto del pH, efecto estérico y además de la competencia con la formación de una imina para su síntesis, ya que la síntesis de esta inicia con un ataque

del grupo amino al carbono del grupo aldehído y de inmediato se da la adición por parte del grupo sulfuro (S^-) a la carbonilamina formada en el paso anterior. ^[86]

Asimismo la reacción en medio acuoso de AlgO/cisteína a un pH relativamente ácido por debajo del P.I, puede brindar la activación de los grupos aldehídos para la reacción con los grupos nucleofílicos de la cisteína. Para la formación de iminas es necesario la eliminación de H_2O (por lo general se evita su presencia) ya que de esta manera desplazamos la reacción de equilibrio hacia la formación de grupos imina (**Ecuación.V.4**).



Ecuación.V.4. Reacción de la formación de iminas.

Además, otro inconveniente es la evidente protonación del grupo amino de la cisteína en medio acuoso debido al alto pKa que presenta. También el grupo tiol presenta un pKa relativamente alto y esto hace que el azufre se encuentre como anión (S^-), de esta manera este tendrá la posibilidad de producir hemitioacetales al reaccionar con los grupos aldehídos, los cuales también son inestables ya que presentan una reacción tipo equilibrio y la protonación de estos con lleva a la formación de tioles. ^[89] A pesar de todos estos inconvenientes es posible sintetizar la propuesta de modificación. Para evitar en cierto grado la racemización se utilizó el agente reductor $NaBH_4$ estabilizando la reacción, y a su vez este reactivo reduce el enlace imínico formando una amina estabilizando de esta manera el enlace.

Las técnicas para determinar específicamente la formación de una interacción covalente de grupos aminos (presente en la cisteína) con los grupos aldehído de un biopolímero (alginato oxidado) no han sido de las más satisfactorias hasta la actualidad ^[90], ya que las respuestas en el espectro FTIR pueden presentar solapamientos en los grupos $-COO$

$\bar{\text{C}}$ y $\text{C}=\text{N}$, aun así una de las mejores técnicas que puede garantizar indirectamente una mejor respuesta es el XPS. [90]

La modificación química del alginato es posible ya que la oxidación del polímero permite generar sitios activos en la cadena estable del alginato debido a su oxidación (la ruptura $\text{C}_2\text{-C}_3$), de esta manera la interacción del aminoácido con la cadena del polímero es viable. En este caso la respuesta del **RMN ^{13}C** en estado sólido buscaría proporcionar información que indique la interacción y formación de la imina/amina pero hasta el momento lo que tendríamos en el **Gráfico.V.21** sería una interacción mínima AlgO/Cisteína en sus formas iónicas pero lo más resaltante es que se observa la pérdida de picos en el espectro característicos del alginato.

Además la respuesta de la descomposición en los termogramas de DSC muestra solamente endotermas para el producto modificado, debemos tener en cuenta que la espontaneidad de una reacción siempre va buscar la estabilidad de un producto (proceso exotérmico). Sin embargo, un proceso endotérmico necesita energía y no es espontánea estas condiciones pueden afectar en la estabilidad del producto sintetizado. A ello podríamos atribuir una descomposición térmica donde el compuesto sufre una termólisis (se descompone en otros productos más simples), unos cambios visibles pueden ser el cambio de color, los olores, etc.

3.3. PRODUCTO DE LA SORCIÓN DE Pb^{+2} CON ALGINATO MODIFICADO CON CISTEÍNA (AlgS – Pb^{+2})

Precipitado obtenido de la sorción de Pb^{+2} con el AlgS.

3.3.1. CARACTERIZACIÓN

3.3.1.1. ANÁLISIS TÉRMICO (TGA/DSC)

En el **Gráfico.V.22** observamos 3 decaimientos en pérdida de masa, asimismo en el **Gráfico.V.23** se presentan 3 picos. Para el análisis del TGA, la primera pérdida de masa es del 4,91 % que correspondería al contenido de H_2O . La segunda pérdida de masa es del 23,78 %, interpretado como una descomposición simple. El tercer decaimiento de la masa (6,03 %) correspondería a la continua degradación del polímero.

En el **Gráfico.V.23** observamos el DSC del AlgS-Pb⁺², El primer pico es un endoterma a 91,2 °C que indica la deshidratación. El siguiente pico es un exoterma a 247,4 °C con un área de 179,1 J/g y por último un exoterma con un pico a los 320,4 °C. Comparando estos dos últimos exotermas con las respuesta del AlgO, tenemos que el pico a los 247,4 °C podría indicar la escisión térmica del grupo carboxílico presente en el biopolímero modificado ya que el exoterma en el alginato podría dar como indicio ello. Asimismo, observamos otro exoterma con un pico a los 320,4 °C. Este exoterma tendría que ver con alguna interacción que presenta el polímero modificado con el metal (Pb⁺²) ya que este no es visible en el modificado ni tampoco el biopolímero de partida.

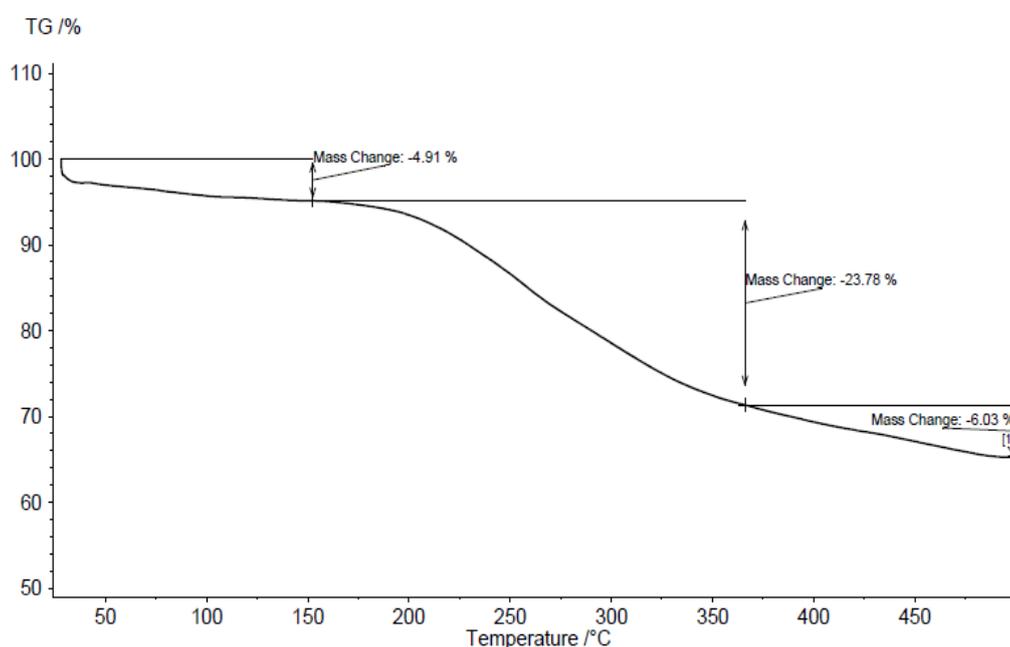


Gráfico.V.22. Análisis TGA del AlgS – Pb⁺².

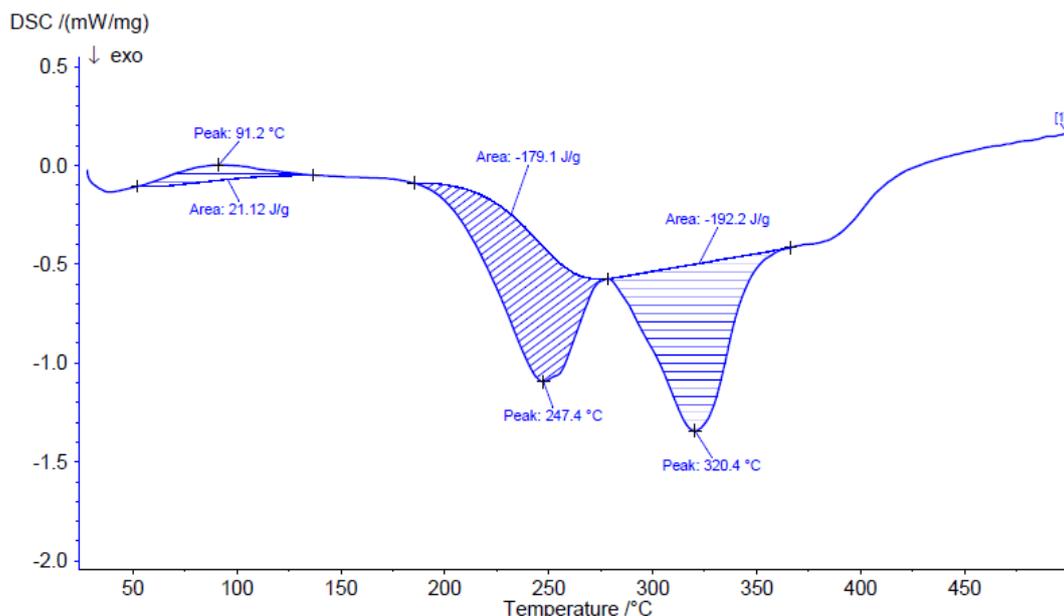


Gráfico.V.23. Análisis DSC del AlgS – Pb⁺².

3.3.1.2. RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR ¹³C EN ESTADO SÓLIDO (RMN ¹³C)

En el AlgS – Pb⁺² (**Gráfico.V.24**) se puede observar la aparición de diversos picos y el gran solapamiento de estos. En el entorno de 100 – 20 ppm tenemos picos que se han solapado indicando de esta manera el nuevo ambiente químico obtenido en la sorción del plomo mientras que es posible atribuir que el entorno químico desde 60 ppm – 100 ppm es de la piranosa, mientras que los grupos carboxilatos presentes se encuentra entre 160 ppm – 180 ppm. ^[91] Además observamos que los picos característicos de la cisteína aún se mantienen por ejemplo el pico a 56,5 ppm podría referirse al entorno del carbono – β. Además comparada con el espectro del modificado los picos característicos de la cisteína disminuyen drásticamente debido a la disolución lo que confirmaría que en el proceso de síntesis del modificado parte de la cisteína se encuentra en conjunto con el polímero modificado, por ende en la disolución para la sorción de Pb⁺². El precipitado formado es el que realmente trabaja como biosorbente y presenta el entorno químico mientras que la cisteína posiblemente que se encuentra como exceso se pierde en la disolución. Observamos el entorno químico del producto sintetizado en sí, ya que la sorción de plomo se ha realizado en un medio acuoso.

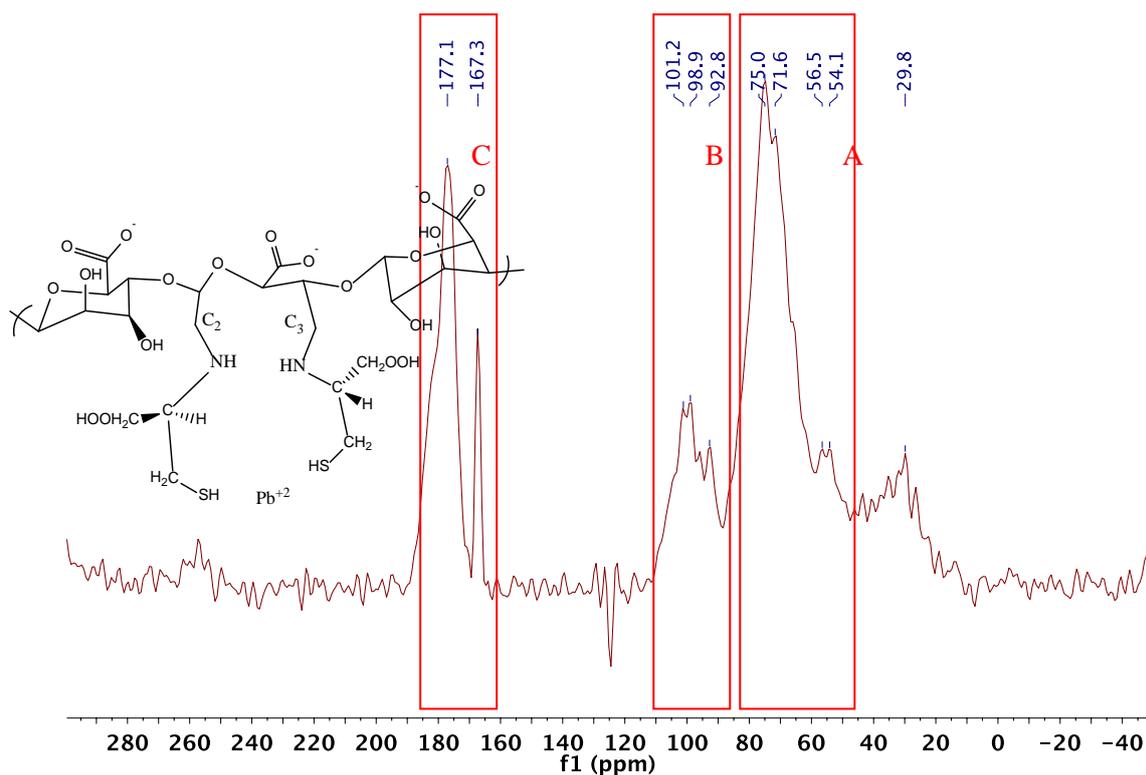


Gráfico.V.24. Análisis RMN ^{13}C en estado sólido del AlgS – Pb^{+2} .

En el **Gráfico.V.24** en **A** se logra observar parte del entorno de la piranosa del alginato los cuales no participan en la reacción identificándose los picos de carbonos a 75 ppm posiblemente del M₄, M₅ y a 71,6 ppm del M₃, M₂, todos estos son carbonos de los grupos manurónicos que no participan de la oxidación y por ende de la modificación química, los cambios por desplazamiento de estas señales para del AlgS- Pb^{+2} en comparación con el AlgO (**Tabla.V.5**) son mínimos, además tenemos que los picos 56,5 y 54,1 se tratarían del mismo carbono pero en este caso radica que la posible disposición geométrica en el producto puede variar como mínimo en 2 tipos de conformación ^[85] y para 29,8 ppm posiblemente es un desplazamiento del carbono de la cisteína ya en el modificado. En **B** el pico a 92,8 ppm corresponde al del hemiacetal el cual disminuyen drásticamente a diferencia que el del **Gráfico.V.14** esto indicaría que la modificación química de la cisteína sobre este carbono posiblemente se esté dando, también se puede observar dos señales de 101,2 ppm y 98,9 ppm, estas dos corresponderían al G₁ y M₁. En **C** se observa la señal de los picos carboxilatos tanto de la cisteína como del alginato a 177,1 ppm y

167,3 ppm respectivamente. Debemos considerar también que el espectro a diferencia de los anteriores realizados presenta un mayor ensanchamiento y ruido, esto es común cuando la muestra que se analiza presenta metales. Comparando los espectros de resonancia magnética nuclear y los ensayos de DRX para cada etapa tenemos:

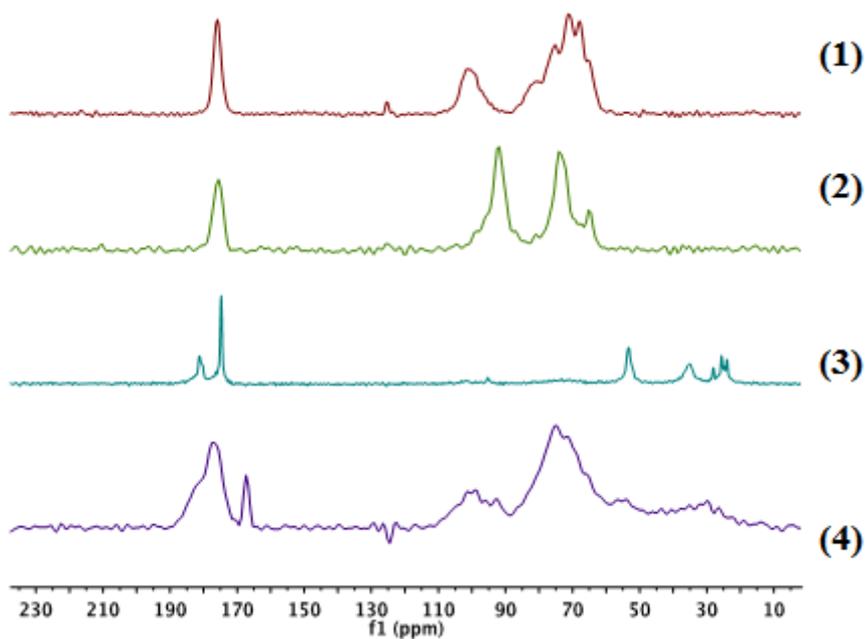


Gráfico.V.25. Análisis RMN ^{13}C en estado sólido comparando el alginato de partida (1), AlgO (2), AlgS (3), AlgS – Pb^{+2} (4).

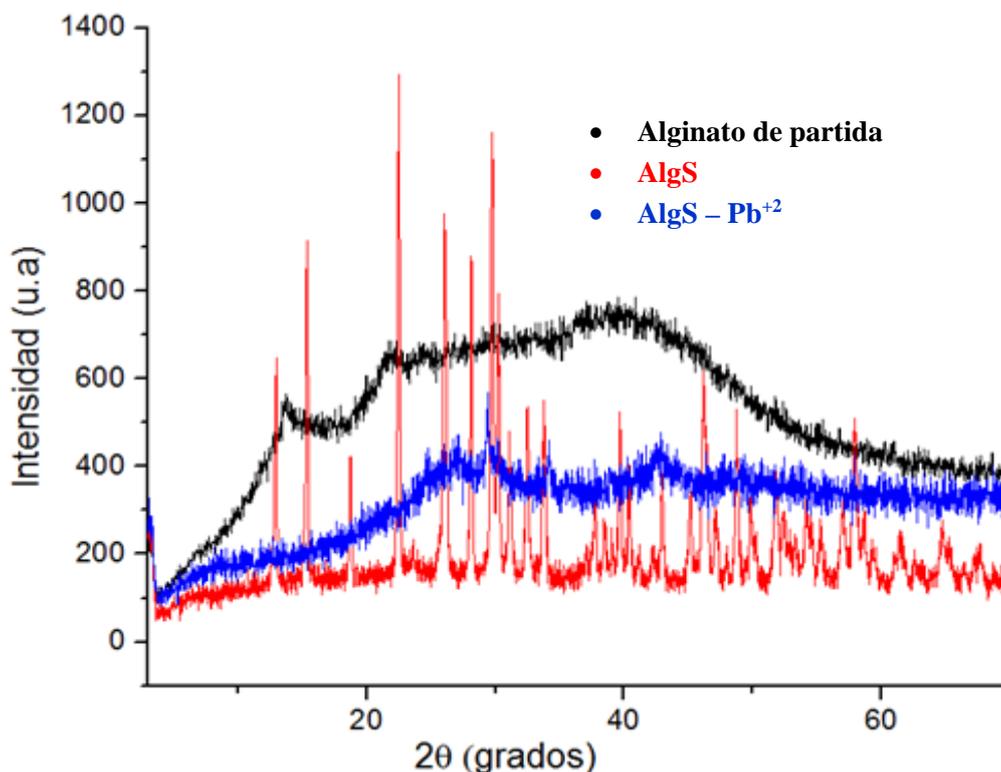


Gráfico.V.26. Análisis DRX tanto para el alginato de partida, AlgS y Alg - Pb⁺².

De estas dos últimas respuestas respaldamos el hecho que el proceso de oxidación se da mediante el uso del peryodato formando grupos aldehídos indudablemente siendo estos últimos muy inestables lo que con lleva a la formación inmediata de hemiacetales, lográndose observar en el pico a 92,2 ppm del RMN ¹³C en estado sólido. Además en la modificación química no se logra elucidar el entorno de la piranosa del alginato en el espectro de RMN, pero el DRX rectifica la alta tasa de cristalinidad lo que hace inferir un alto % de cisteína que no ha reaccionado en la solución. Este tipo de problemas se podría solucionar mediante el uso de unas membranas de diálisis, pero el espectro del AlgS - Pb⁺² permite observar la presencia de 2 picos a 180 – 160 ppm siendo estos los carboxilatos de la cisteína como del alginato y el análisis DRX para este es amorfo. Por tanto lleva a indicar que el amorfismo indudablemente se debe mantener en cada etapa de la modificación ya que el alginato de sodio es un biopolímero estadístico y además es un copolímero presentando como características iniciales el desorden de la estructura. La cristalinidad en el modificado indicaría la contaminación del material con una concentración en exceso del compuesto modificante (cisteína) ya que esta última es la única que presenta cristalinidad. Que presente amorfismo el AlgS - Pb⁺², indica que las

impurezas de cisteína en el modificado cuando se realiza los ensayos de sorción se disuelven y el precipitado formado es el alginato modificado con cisteína (se aisló de la solución y se realizaron los análisis correspondientes) ya en el **Gráfico.V.24** se puede observar los desplazamientos químicos tanto de la cisteína como del alginato, además que el DRX muestra el amorfismo del AlgS – Pb⁺². Asimismo existen precedentes de cómo es posible la interacción Pb⁺² con cisteína. [92]

4. SORCIÓN

4.1. MICROESFERAS

4.1.1. OBTENCIÓN DE MICROESFERAS

Las perlas que se obtuvieron fueron por el método de difusión (siendo este el de gelificación externa). La especie entrecruzante fue el cloruro de calcio. Ya que las perlas se obtuvieron a partir del goteo por una bureta conteniendo en esta la solución de alginato, se observó que el tamaño promedio de las perlas obtenidas no fue uniforme debido a que esto depende mucho del control de goteo y a su vez de la caída de las gotas, por lo general al caer estas existe un arrastre de la solución de alginato teniendo así la forma de una lagrima sumando la deformación por parte del impacto con el baño de la solución gelificante; aun así como primera parte se buscó probar la capacidad de sorción de las microesferas de alginato. El tamaño aproximado de las microesferas obtenidas fue aproximadamente de 4 mm. [58, 59, 78]

4.1.2. % DE HUMEDAD

En la **Tabla.V.9** podemos observar que las perlas obtenidas presentan un alto porcentaje de humedad, era de esperarse ya que se conoce que las microesferas pueden presentar aproximadamente un 95 % de agua.

Tabla.V.9. % de humedad a diferentes concentraciones de las microesferas

Sol. de Alginato (%)	Peso Húmedo (g)	Peso Seco (g)	% Humedad (%)
1	1,0297	0,0166	98,3878
1.5	1,0630	0,0202	98,0997
2	1,0369	0,0256	97,5311
2.5	1,0267	0,0300	97,0780
3	1,0529	0,0313	97,0272
3.5	1,0062	0,0302	96,9986

4.1.3. SORCIÓN DE Pb^{+2}

Se realizó las pruebas de sorción con las microesferas de alginato, en donde las condiciones iniciales de trabajo se realizaron a $pH = 4,5 - 5$ y con aproximadamente 200 mg de microesferas por un periodo de sorción de 12 horas. Este análisis permite conocer el valor del (q) de retención es decir la capacidad de las perlas como agente para la remoción de Pb^{+2} , asimismo se construye la isoterma de adsorción y se observa si se ajusta a un modelo de Langmuir o Freundlich. ^[58]

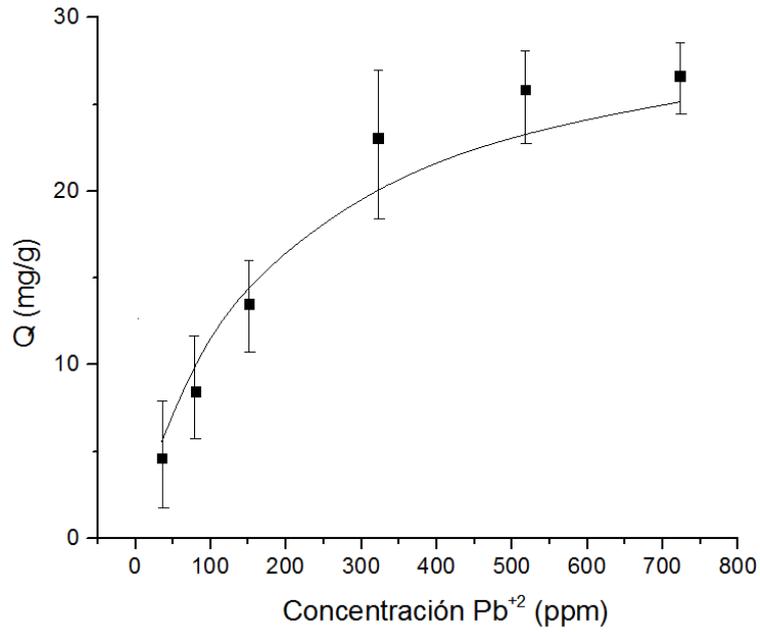


Gráfico.V.27. Isoterma de sorción de Pb²⁺ con microesferas de alginato.

En el **Gráfico.V.27** observamos cómo es la tendencia de la sorción de Pb²⁺ en donde el **Q_{max}** aproximadamente se encuentra en el rango **20 – 30 (mg/g)** siendo este valor para las microesferas al 2,5 %.

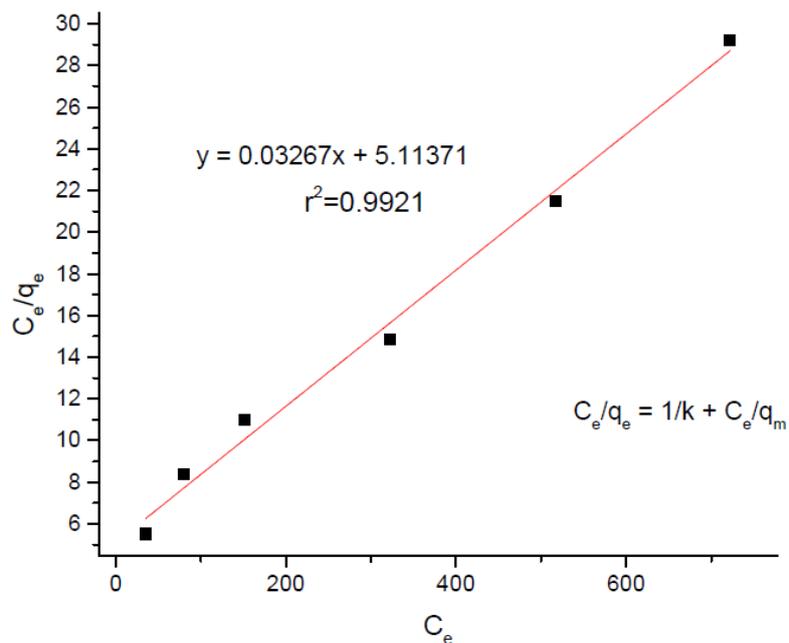
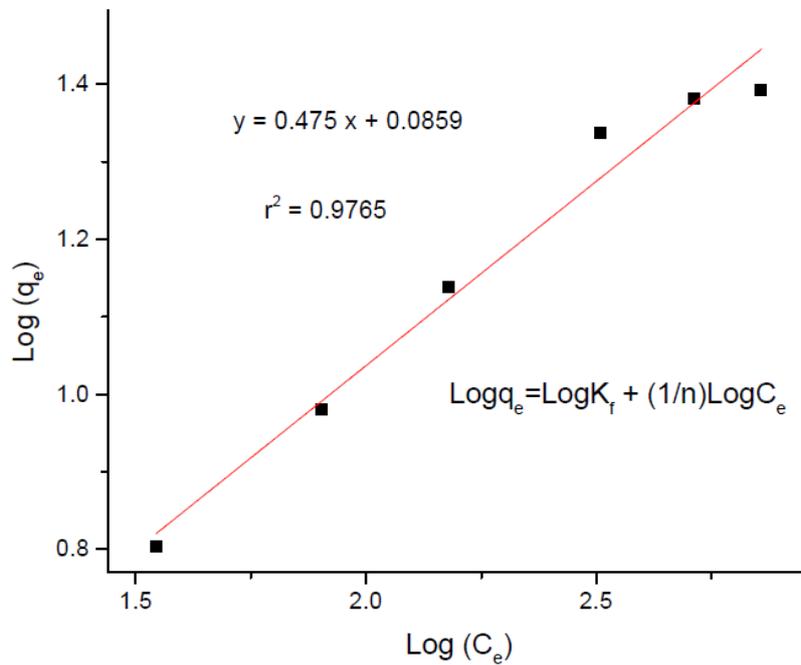


Gráfico.V.28. Ajuste al modelo de Langmuir (sorción de Pb²⁺ por microesferas).



Gr1fico.V.29. Ajuste al modelo de Freundlich (sorci3n de Pb^{+2} por microesferas).

En el **Gr1fico.V.28** y **Gr1fico.V.29** presentamos los modelos de **Langmuir** y **Freundlich** donde la isoterma de **Langmuir** se expresa como una ecuaci3n linealizada:^[58,59]

$$\frac{c_e}{q_e} = \frac{1}{k} + \frac{C_e}{q_m}$$

Donde, C_e es la concentraci3n en equilibrio una vez ya realizado la sorci3n (mg/L), q_e equivale a la capacidad de retenci3n del adsorbente por unidad de gramo de adsorbato (g/g), q_m representa el modelo de la isoterma postulando que la adsorci3n se realiza en la superficie homog3nea por una monocapa, adem1s de ello q_m es la capacidad m1xima de adsorci3n y k equivale a la constante de langmuir. Por ende del resultado tenemos:

$$q_m = 30,60 \frac{\text{mg}}{\text{g}}$$

$$k = 0,1955 \text{ y } r^2 = 0,9921$$

Y para la isoterma de Freundlich tenemos:

$$\text{Log}(q) = \text{log}(k) + 1/n \text{Log}(C)$$

$$k_f = 1,2188$$

$$n = 2,1034 \text{ y } r^2 = 0,9765$$

Donde, K_f y n son constantes características del sistema. Éste es un modelo empírico, aunque se admite que K_f es una indicación aproximada de la capacidad de adsorción y $1/n$, de la intensidad de adsorción.

Tabla.V.10. Modelos de sorción

Modelo	r^2 (Coeficiente de correlación)	Constantes
Langmuir	0,9921	$q_{max} = 30,60 \text{ mg/g}$ $k = 0,1955$
Freundlich	0,9765	$k_f = 1,2188$ $n = 2,1034$

Observando los coeficientes de correlación (r^2) tenemos que la adsorción se ajusta perfectamente al modelo de Langmuir.

Donde el valor teórico de q_m calculado por la ecuación se aproxima al valor experimental, por ende se establecería que $q_m = 30,60 \text{ mg/g}$ representaría la capacidad de retención máxima para el alginato entrecruzado con calcio para la sorción de Pb^{+2} .

4.1.4. SORCIÓN DE Cd^{+2}

Se realizó las pruebas de sorción de Cd^{+2} con las microesferas de alginato, en donde las condiciones iniciales de trabajo se realizaron a $pH = 6$ y con aproximadamente 200 mg de microesferas por un periodo de sorción de 12 horas. Este análisis permite conocer el valor del (q) de retención es decir la capacidad de las perlas como agente para la remoción de Cd^{+2} , asimismo se construye la isoterma de adsorción y se observa si se ajusta a un modelo de Langmuir o Freundlich. [59, 78]

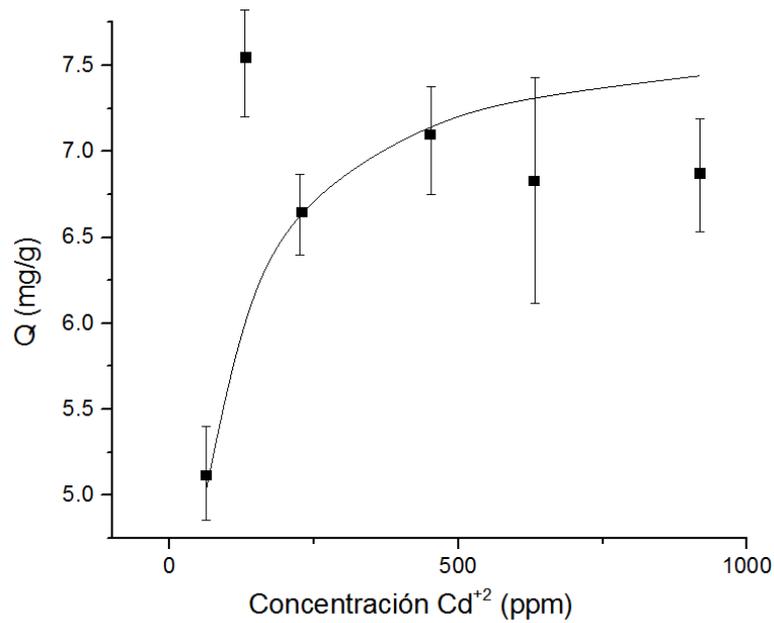


Gráfico.V.30. Isotherma de sorción de Cd²⁺ con microesferas de alginato.

En el **Gráfico.V.30** observamos cómo es la tendencia de la sorción de Cd²⁺ en donde el **Q_{max}** aproximadamente se encuentra en el rango **5 – 10 (mg/g)** siendo este valor para las microesferas de alginato al 2,5 %.

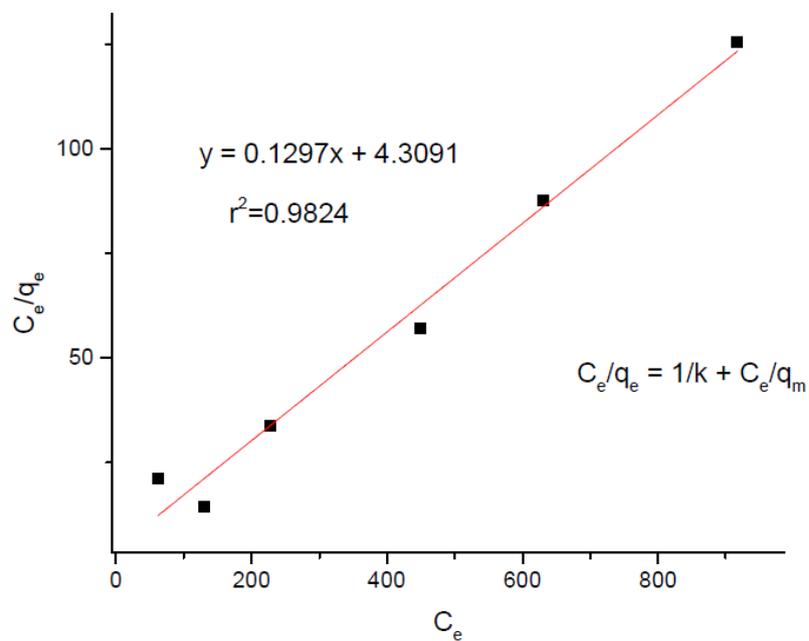


Gráfico.V.31. Ajuste al modelo de Langmuir (sorción de Cd²⁺ por microesferas).

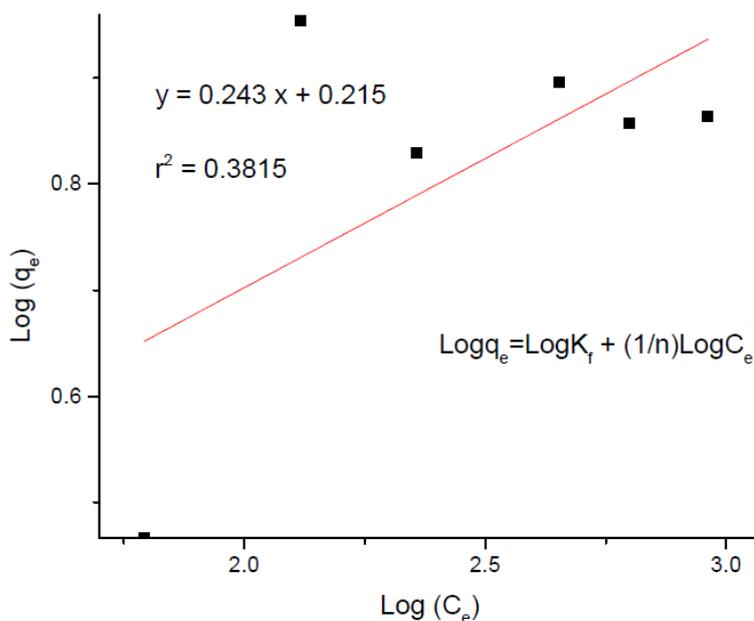


Gráfico.V.32. Ajuste al modelo de Freundlich (Sorción de Cd⁺² por microesferas).

En el **Gráfico.V.31** y **Gráfico.V.32** presentamos los modelos de **Langmuir** y **Freundlich** donde la isoterma de **Langmuir** se expresa como una ecuación linealizada:^[59,78]

$$\frac{c_e}{q_e} = \frac{1}{k} + \frac{C_e}{q_m}$$

Donde, C_e es la concentración en equilibrio una vez ya realizado la sorción (mg/L), q_e equivale a la capacidad de retención del adsorbente por unidad de gramo de adsorbato (g/g), q_m representa el modelo de la isoterma postulando que la adsorción se realiza en la superficie homogénea por una monocapa, además de ello q_m es la capacidad máxima de adsorción y k equivale a la constante de langmuir. Por ende del resultado tenemos:

$$q_m = 7,71 \frac{mg}{g}$$

$$k = 0,2322 \text{ y } r^2 = 0,9824$$

Y para la isoterma de Freundlich tenemos:

$$\text{Log}(q) = \text{log}(k) + 1/n \text{Log}(C)$$

$$k_f = 1,6405$$

$$n = 4,1152 \text{ y } r^2 = 0,3815$$

Donde, K_f y n son constantes características del sistema. Éste es un modelo empírico, aunque se admite que K_f es una indicación aproximada de la capacidad de adsorción y $1/n$, de la intensidad de adsorción.

Tabla.V.11. Modelos de sorción

Modelo	r^2 (Coeficiente de correlación)	Constantes
Langmuir	0,9824	$q_{max} = 7,71 \text{ mg/g}$ $k = 0,2322$
Freundlich	0,3815	$k_f = 1,6405$ $n = 4,1152$

Observando los coeficientes de correlación (r^2) tenemos que la adsorción se ajusta perfectamente al modelo de langmuir.

Donde el valor teórico de q_m calculado por la ecuación se aproxima al valor experimental, por ende se establecería que $q_m = 7,71 \text{ mg/g}$ representaría la capacidad de retención máxima para el alginato entrecruzado con calcio para la sorción de Cd^{+2} .

4.2. ALGINATO MODIFICADO CON CISTEÍNA (AlgS)

4.2.1. SORCIÓN DE Pb^{+2}

Se halló el pH adecuado para la sorción de Pb^{+2} con el alginato modificado:

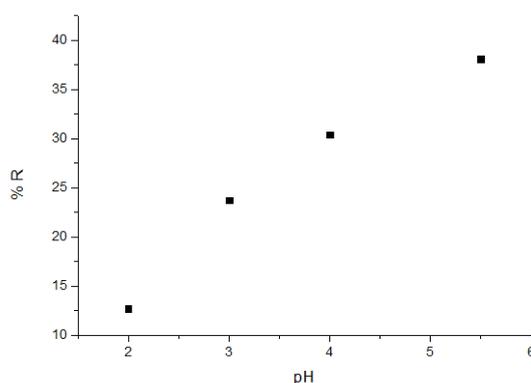


Gráfico.V.33. % Remoción vs pH.

En el **Gráfico.V.33** se puede observar el valor máximo de remoción de Pb^{+2} siendo el valor del $pH = 5,4$. Las medidas superiores a $pH=6$ presentan cierto grado de interferencia ya que el Pb^{+2} ya no se encuentra como ión y comienza a precipitar en forma de hidróxido.

Una vez tomado las medidas y conociendo por el **Gráfico.V.33** el valor del pH adecuado donde ocurre una máxima adsorción aproximadamente se realizó una gráfica q (retención) vs Concentración (ppm) de Pb (II). Las concentraciones se encuentran en (ppm), y con estos resultados podemos construir la isoterma que se observa en el **Gráfico.V.34**.

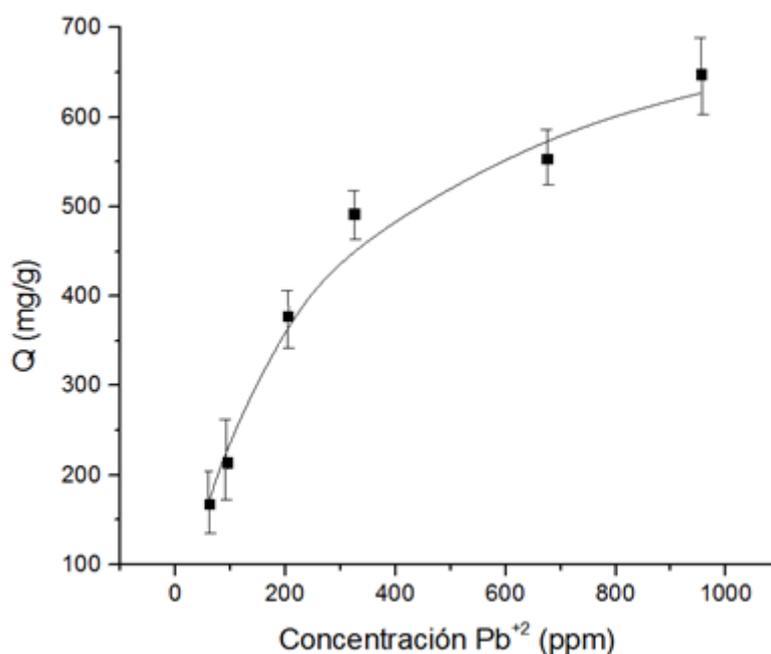


Gráfico.V.34. Isotherma de sorción de Pb^{+2} con AlgS.

En el **Gráfico.V.34** observamos cómo es la tendencia de la adsorción de Pb^{+2} presenta en donde el Q_{max} aproximadamente se encuentra en el rango **600 – 700 (mg/g)** siendo está muy superior al que muestran las microesferas al 2,5 % teniendo el valor de 30,60 mg/g.

La diferencia no solamente radica en el cambio del principio del tipo de sorción, el cual para las microesferas es un intercambio iónico y en cambio para el nuevo material se trata de una interacción de los grupos funcionales libres que presenta el modificado hacia la captura del Pb^{+2} en solución.

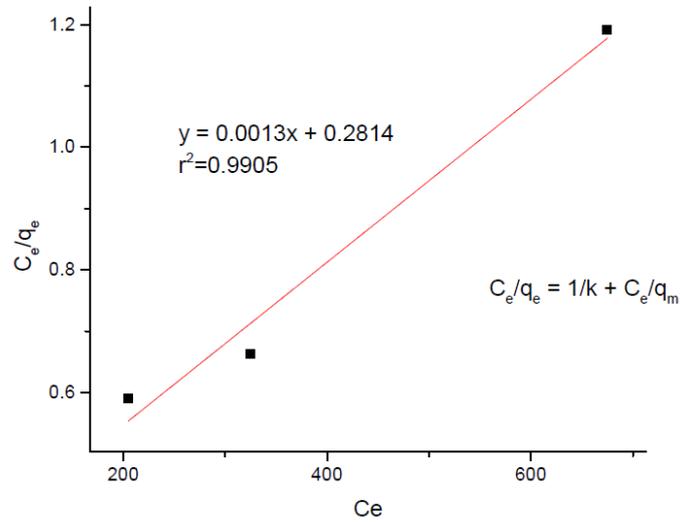


Gráfico.V.35. Modelo de Langmuir.

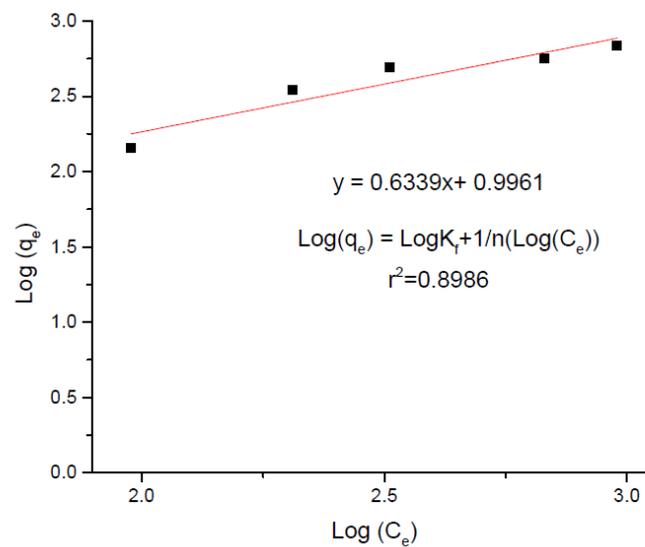


Gráfico.V.36. Modelo de Freundlich.

En el **Gráfico.V.35** y **Gráfico.V.36** presentamos los modelos de **Langmuir** y **Freundlich** donde la isoterma de **Langmuir** se expresa como una ecuación linealizada:

$$\frac{c_e}{q_e} = \frac{1}{k} + \frac{C_e}{q_m}$$

Donde, C_e es la concentración en equilibrio una vez ya realizado la sorción (mg/L), q_e equivale a la capacidad de retención del adsorbente por unidad de gramo de adsorbato

(g/g), q_m representa el modelo de la isoterma postulando que la adsorción se realiza en la superficie homogénea por una monocapa, además de ello q_m es la capacidad máxima de adsorción y k equivale a la constante de langmuir:

$$q_m = 770 \frac{mg}{g}$$

$$k = 3,553 \text{ y } r^2 = 0,9905$$

Y para la isoterma de Freundlich tenemos:

$$k_f = 9,9106$$

$$n = 1,5775 \text{ y } r^2 = 0,8986$$

Donde, K_f y n son constantes características del sistema. Éste es un modelo empírico, aunque se admite que K_f es una indicación aproximada de la capacidad de adsorción y $1/n$, de la intensidad de adsorción.

Tabla.V.12. Modelos de sorción

Modelo	r^2 (Coeficiente de correlación)	Constantes
Langmuir	0,9905	$q_{max} = 770 \text{ mg/g}$ $k = 3,553$
Freundlich	0,8986	$k_f = 9,9106$ $n = 1,5775$

Observando los coeficientes de correlación (r^2) tenemos que la adsorción se ajusta perfectamente al modelo de langmuir.

Donde el valor teórico de q_m calculado por la ecuación se aproxima al valor experimental, por ende se establecería que $q_m = 770 \text{ mg/g}$ representaría la capacidad de retención máxima para el AlgS corroborando de esta manera la síntesis de un nuevo material con una alta selectividad en la remoción de Pb^{+2} en un medio acuoso.

4.2.2. SORCIÓN DE Cd^{+2}

Se realizó las pruebas de sorción del AlgS, en donde las condiciones iniciales de trabajo se realizaron a $\text{pH} = 6$ y con aproximadamente 25 mg de modificado en agitación constante por un periodo de sorción de 12 horas. Este análisis permite conocer el valor del (q) de retención es decir la capacidad del modificado como agente para la remoción de Cd^{+2} . A continuación, se construye la isoterma de adsorción y se observa si se ajusta a un modelo de Langmuir o Freundlich. [58, 78]

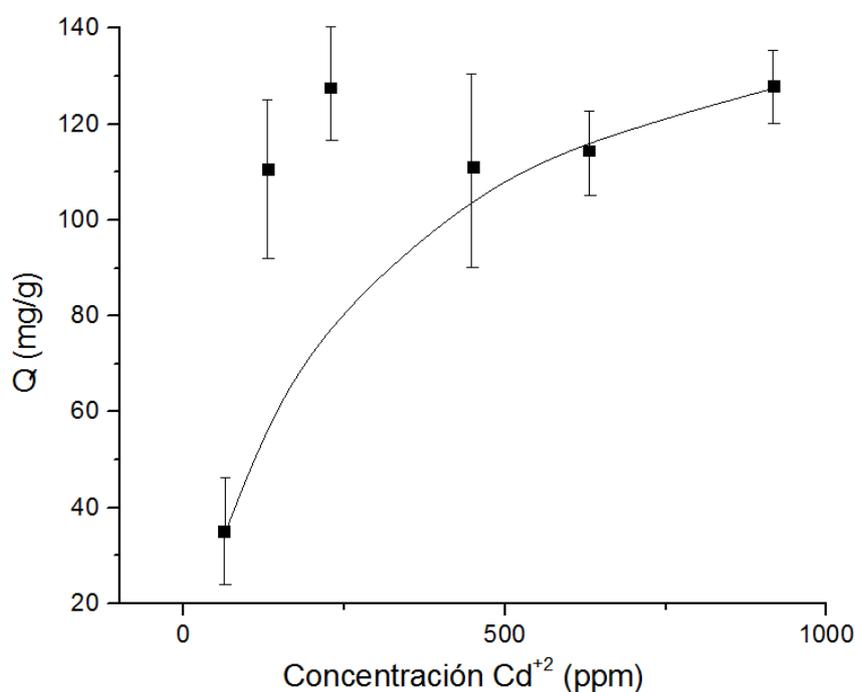


Gráfico.V.37. Isoterma de sorción de Cd^{+2} con AlgS.

En el **Gráfico.V.37** observamos cómo es la tendencia de la adsorción de Pb^{+2} presenta en donde el Q_{max} aproximadamente se encuentra en el rango **120 – 140 (mg/g)** siendo está muy superior al que muestran las microesferas de alginato al 2,5 % teniendo el valor de **7,71 mg/g**.

La diferencia no solamente radica en el cambio del principio del tipo de sorción, el cual para las microesferas es un intercambio iónico y en cambio para el nuevo material se trata de una interacción de los grupos funcionales libres que presenta el modificado hacia la captura del Cd^{+2} en solución.

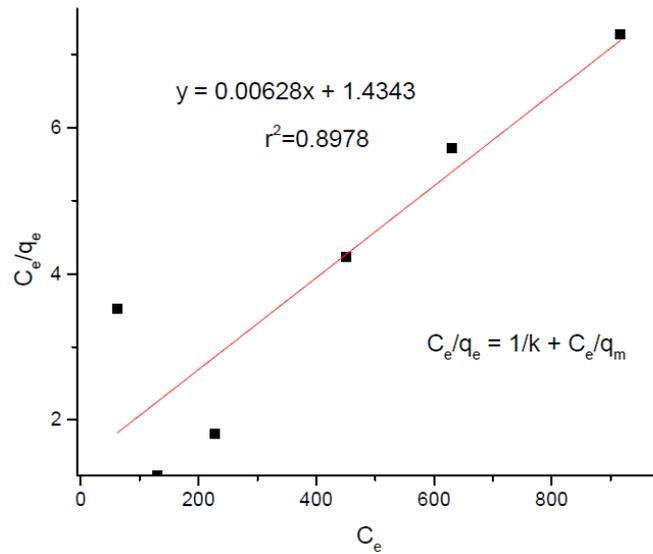


Gráfico.V.38. Ajuste al modelo de Langmuir.

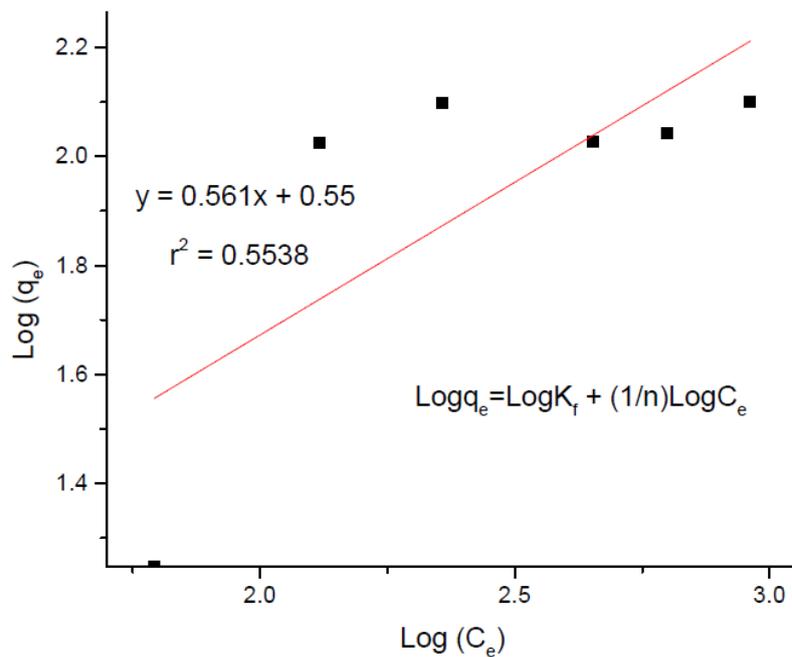


Gráfico.V.39. Ajuste al modelo de Freundlich.

En el **Gráfico.V.38** y **Gráfico.V.39** presentamos los modelos de **Langmuir** y **Freundlich** donde la isoterma de **Langmuir** se expresa como una ecuación linealizada:

$$\frac{c_e}{q_e} = \frac{1}{k} + \frac{C_e}{q_m}$$

Donde, C_e es la concentración en equilibrio una vez ya realizado la sorción (mg/L), q_e equivale a la capacidad de retención del adsorbente por unidad de gramo de adsorbato (g/g), q_m representa el modelo de la isoterma postulando que la adsorción se realiza en la superficie homogénea por una monocapa, además de ello q_m es la capacidad máxima de adsorción y k equivale a la constante de langmuir. Por ende del resultado tenemos:

$$q_m = 160 \frac{mg}{g}$$

$$k = 0,6972 \text{ y } r^2 = 0,8978$$

Y para la isoterma de Freundlich tenemos:

$$\text{Log}(q) = \log(k) + 1/n \text{Log}(C)$$

$$k_f = 3,548$$

$$n = 1,7825 \text{ y } r^2 = 0,5538$$

Donde, K_f y n son constantes características del sistema. Éste es un modelo empírico, aunque se admite que K_f es una indicación aproximada de la capacidad de adsorción y $1/n$, de la intensidad de adsorción.

Tabla.V.13. Modelos de sorción

Modelo	r^2 (Coeficiente de correlación)	Constantes
Langmuir	0,8978	$q_{max} = 160 \text{ mg/g}$ $k = 0,6972$
Freundlich	0,5538	$k_f = 3,548$ $n = 1,7825$

Observando los coeficientes de correlación (r^2) tenemos que la adsorción se ajusta perfectamente al modelo de langmuir.

Donde el valor teórico de q_m calculado por la ecuación se aproxima al valor experimental, por ende se establecería que $q_m = 160 \text{ mg/g}$ representaría la capacidad de retención máxima para el AlgS corroborando de esta manera la síntesis de un nuevo material con una alta selectividad en la remoción de Cd^{+2} en un medio acuoso.

Finalmente, ya que la sorción se ajusta a un modelo de langmuir, presentamos la siguiente tabla con la conclusión de los resultados de la sorción:

Tabla.V.14. Resultados de la sorción

ISOTERMA LANGMUIR		
METAL	MICROESFERAS	AlgS
Pb⁺²	$q_{max}= 30,60 \text{ mg/g}$ $k = 0,1955$	$q_{max}= 770\text{mg/g}$ $k = 3,553$
Cd⁺²	$q_{max}= 7,71 \text{ mg/g}$ $k = 0,2322$	$q_{max}= 160 \text{ mg/g}$ $k = 0,6972$

En la **Tabla.V.14** se observa los parámetros de langmuir, obtenidos de la sorción de Pb⁺² y Cd⁺² estos dos valores son relevantes ya que uno determina la retención máxima (q_{max}) y el otro (k) evalúa la energía de adsorción. En este caso el alginato modificado con cisteína a diferencia de las microesferas, presenta un mayor valor de retención máxima tanto en el caso del Pb⁺² como en el Cd⁺², siendo respectivamente $q_{max} \text{ Pb}^{+2} = 770 \text{ mg/g}$ y $q_{max} \text{ Cd}^{+2} = 160 \text{ mg/g}$. Por otro lado el valor de k en el alginato modificado con cisteína es aproximadamente 3,5; un valor muy alto a diferencia de los otros lo que demuestra una alta afinidad de la sorción de Pb⁺² a diferencia del Cd⁺², no sin antes remarcar que el Cd⁺² es removido en mayor proporción con el modificado que con las microesferas, ratificando esto con la determinación del k , siendo mayor en el modificado.

VI. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se pueden extraer una serie de conclusiones expuestas a continuación:

- Se logró caracterizar el alginato de sodio determinando su peso molecular ($M_w = 100 \text{ kDa}$), los grupos funcionales por FTIR, el difractograma (DRX) determinó el amorfismo del alginato, los termogramas permitieron elucidar la descomposición y la estabilidad del material y el RMN ^{13}C logró analizar cómo es la disposición estructural del alginato, el mayor % de grupos G y por ende las propiedades físicas y químicas que puede presentar el polímero de partida.
- Se logró caracterizar por técnicas de DRX, TGA y SEM las microesferas sin Pb^{+2} y con Pb^{+2} . Los resultados demostraron en el SEM la presencia de rugosidad y cavidades que participan en la sorción del Pb^{+2} .
- Se modificó químicamente el alginato siguiendo 2 etapas: La oxidación y la aminación con cisteína. Se caracterizó cada etapa de modificación observando para el oxidado en el espectro en el RMN ^{13}C un pico a los 92,2 ppm característico para los hemiacetales producto de la reducción del grupo aldehído con los alcoholes vecinos (efecto de protección/desprotección). Asimismo se observó preferencia de la oxidación de los grupos gulurónicos.
- Se caracterizó cada etapa de modificación siendo la más resaltante la del alginato modificado con cisteína (AlgS) y el AlgS - Pb^{+2} donde algunos picos característicos de la cisteína son observables en el espectro FTIR y en el espectro de RMN ^{13}C . Se observa la presencia de los picos característicos del carboxilato de la cisteína y del alginato, el entorno químico de la cisteína, así como la disminución del pico a 92,2 ppm del hemiacetal y que los picos de los carbono del grupo manurónico se mantuvieron estables a diferencia de los del gulurónico.
- Se determinó los valores de (q) para la sorción de Pb^{+2} y Cd^{+2} con las microesferas de alginato y el AlgS, observando que el AlgS presenta un q_{max} de **770 (mg/g)** para el caso del Pb^{+2} siendo muy superior al de las microesferas que presentaban un q_{max} de **30 (mg/g)** y para el Cd^{+2} presentó un q_{max} de **160 (mg/g)** con el AlgS y con las microesferas un q_{max} de **7 (mg/g)**.

VII. RECOMENDACIONES

La presente tesis puede dar aperturas a futuros trabajos, teniendo en cuenta las recomendaciones a partir de esta, como:

- La optimización del proceso de síntesis, controlando los parámetros que participan en la modificación química del alginato con cisteína, ya que tanto la concentración, pH del medio, temperatura, tiempo de reacción, son variables que pueden modificar en gran medida el producto a obtener en una síntesis.
- El uso de membranas de diálisis es recomendable para purificar cada etapa de la síntesis, permitiendo evitar problemas de contaminación y reacciones indeseables. Además estas membranas son selectivas a partir de un tamaño de peso molecular en adelante.
- La síntesis de imínas, es una reacción reversible y tiene como subproducto agua, la cual podría ser un impedimento ya que la reacción de equilibrio se desplazaría hacia los reactantes, pero no necesariamente ocurre así teniendo en cuenta un control adecuado de los parámetros. Una sugerencia para este tipo de síntesis es el uso de una trampa Dean-Stark para la eliminación del agua del medio.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Painter T, J. (1983). Algal polysaccharides. In G. O. Aspinall, The Polysaccharides (2nd ed., pp. 196 - 286). New York: Academic Press.
- [2] Stanford, E. (1883). Algin: A New Substance Obtained from Some of the Commoner Species of Marine Algæ. *Scientific American*, 16(396supp), 6323-6324.
- [3] Stephen, A., Phillips, G., & Williams, P. (2006). Food polysaccharides and their applications (1st ed.). Boca Raton, FL: CRC/Taylor & Francis.
- [4] Andresen, I., Skipnes, O., Smidsrød, O., Ostgaard, K. & Hemmer, P. (1977). Some Biological Functions of Matrix Components in Benthic Algae in Relation to Their Chemistry and the Composition of Seawater. *ACS Symposium Series*, 361-381.
- [5] Michael Dominic Richard Guiry. (2016). *Laminaria hyperborea* (Gunnerus) Foslie. Marzo 03,2016, de Algaebase Sitio web: http://www.seaweed.ie/descriptions/Laminaria_hyperborea.php.
- [6] Guangjin. (2015). *Lessonia Nigrescen*. Marzo 08, 2016, de Guangjin Sitio web: http://www.benlatina.cl/?page_id=2971.
- [7] Draget, K., Smidsrød, O. and Skjåk-Bræk, G. (2005). Alginates from Algae. *Biopolymers Online*.
- [8] Pawar, S. & Edgar, K. (2012). Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. *Biomaterials*, 33(11), 3279-3305.
- [9] Pawar, S. & Edgar, K. (2011). Chemical Modification of Alginates in Organic Solvent Systems. *Biomacromolecules*, 12(11), 4095-4103.
- [10] Donati, I., Holtan, S., Mørch, Y., Borgogna, M. & Dentini, M. (2005). New Hypothesis on the Role of Alternating Sequences in Calcium–Alginate Gels. *Biomacromolecules*, 6(2), 1031-1040.
- [11] Sikorski, P., Mo, F., Skjåk-Bræk, G. & Stokke, B. (2007). Evidence for Egg-Box-Compatible Interactions in Calcium–Alginate Gels from Fiber X-ray Diffraction. *Biomacromolecules*, 8(7), 2098-2103.
- [12] Mørch, Y., Donati, I. & Strand, B. (2006). Effect of Ca²⁺, Ba²⁺, and Sr²⁺ on Alginate Microbeads. *Biomacromolecules*, 7(5), 1471-1480.
- [13] Timell, T. (1964). The acid hydrolysis of glycosides: I. General conditions and the effect of the nature of the aglycone. *Canadian Journal of Chemistry*, 42(6), 1456-1472.
- [14] Smidsrød, O., Haug, A., Larsen, B., von Hofsten, B., Williams, D., Bunnberg, E., Djerassi, C. & Records, R. (1966). The Influence of pH on the Rate of Hydrolysis of Acidic Polysaccharides. *Acta Chemica Scandinavica*, 20, 1026-1034.
- [15] Haug, A., Larsen, B., Smidsrød, O., Munch-Petersen, J. & Munch-Petersen, J. (1963). The Degradation of Alginates at Different pH Values. *Acta Chemica Scandinavica*, 17, 1466-1468.

- [16] Leo, W., McLoughlin, A. & Malone, D. (1990). Effects of sterilization treatments on some properties of alginate solutions and gels. *Biotechnology Progress*, 6(1), 51-53.
- [17] Hoare, T. & Kohane, D. (2008). Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer*, 49(8), 1993-2007.
- [18] Lee, K. & Mooney, D. (2012). Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 37(1), 106-126.
- [19] Donati, I. & Paoletti, S. (2009). Material Properties of Alginates. In H. Berndt Rehm, *Alginate: Biology and Applications* (1st ed., pp. 1-55). Germany: Springer Science.
- [20] Quong, D., Neufeld, R., Skjåk-Bræk, G. & Poncelet, D. (1998). External versus internal source of calcium during the gelation of alginate beads for DNA encapsulation. *Biotechnology and Bioengineering*, 57(4), 438-446.
- [21] Liu, X., Yu, W., Zhang, Y., Xue, W., Yu, W., Xiong, Y., Ma, X., Chen, Y. & Yuan, Q. (2002). Characterization of structure and diffusion behaviour of Ca-alginate beads prepared with external or internal calcium sources. *Journal of Microencapsulation*, 19(6), 775-782.
- [22] Papageorgiou, M., Kasapis, S. & Gothard, M. (1994). Structural and textural properties of calcium induced, hot-made alginate gels. *Carbohydrate Polymers*, 24(3), 199-207.
- [23] Chan, L., Lee, H. & Heng, P. (2006). Mechanisms of external and internal gelation and their impact on the functions of alginate as a coat and delivery system. *Carbohydrate Polymers*, 63(2), 176-187.
- [24] Yang, J., Xie, Y. & He, W. (2011). Research progress on chemical modification of alginate: A review. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 33-39.
- [25] Kristiansen, K., Potthast, A. & Christensen, B. (2010). Periodate oxidation of polysaccharides for modification of chemical and physical properties. *Carbohydrate Research*, 345(10), 1264-1271.
- [26] Gomez, C., Rinaudo, M. & Villar, M. (2007). Oxidation of sodium alginate and characterization of the oxidized derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 67(3), 296-304.
- [27] Painter, T., Larsen, B., Sjövall, J., Kääriäinen, L., Rasmussen, S., Sunde, E. & Sørensen, N. (1970). Formation of Hemiacetals between Neighbouring Hexuronic Acid Residues during the Periodate Oxidation of Alginate. *Acta Chemica Scandinavica*, 24, 813-833.
- [28] Zhao, H. & Heindel, N. (1991). Determination of Degree of Substitution of Formyl Groups in Polyaldehyde Dextran by the Hydroxylamine Hydrochloride Method. *Pharmaceutical Research*, 08(3), 400-402.
- [29] Guthrie, R. (1971). Periodate oxidation of diols and other functional groups. *Carbohydrate Research*, 19(1), 144.
- [30] Carré, M., Delestre, C., Hubert, P. & Dellacherie, E. (1991). Covalent coupling of a short polyether on sodium alginate: Synthesis and characterization of the resulting amphiphilic derivative. *Carbohydrate Polymers*, 16(4), 367-379.
- [31] Alban, S. (2002). Anticoagulant sulfated polysaccharides: Part I. Synthesis and structure-activity relationships of new pullulan sulfates. *Carbohydrate Polymers*, 47(3), 267-276.

- [32] Ronghua, H., Yumin, D. & Jianhong, Y. (2003). Preparation and in vitro anticoagulant activities of alginate sulfate and its quaterized derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 52(1), 19-24.
- [33] Liu, M. Z., & Cao, L. X. (2002). Preparation of a superabsorbent resistant to saline solution by copolymerization of acrylic acid with sodium polymanuronate. *Chinese Journal of Applied Chemistry*, 19, 455–458.
- [34] Sinquin, A., Dellacherie, E., & Hubert, P. (1993). Amphiphilic derivatives of alginate: Evidence for intra- and intermolecular hydrophobic association in aqueous solution. *Langmuir*, 9, 3334–3337.
- [35] Galant, C., Kjøniksen, A., Nguyen, G., Knudsen, K. & Nyström, B. (2006). Altering Associations in Aqueous Solutions of a Hydrophobically Modified Alginate in the Presence of β -Cyclodextrin Monomers. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(1), 190-195.
- [36] Gomez, C. G., Chambat, G., Heyraud, A., Villar, M., & Auzély-Velt, R. (2006). Synthesis and characterization of a β -CD–alginate conjugate. *Polymer*, 47, 8509–8516.
- [37] Albeicicio, F., Chinchilla, R., Dodsworth, D. & Nájera, C. (2001). New trends in peptide coupling reagents. *Organic Preparations and Procedures International*, 33(3), 203-303.
- [38] Carpino, L.A., Imazumi, H., Foxman, B.M., Vela, M.J., Henklein, P., El-Faham, A., Klose, J. & Bienert, M. (2000) Comparison of the Effects of 5- and 6-HOAt on Model Peptide Coupling Reactions Relative to the Cases for the 4 - and 7 - Isomers. *Organic Letters*, 2, 2253-2256.
- [39] Williams, A. & Ibrahim, I. (1981). Carbodiimide chemistry: recent advances. *Chemical Reviews*, 81(6), 589-636.
- [40] DeTar, D. & Silverstein, R. (1966). Reactions of Carbodiimides. I. The Mechanisms of the Reactions of Acetic Acid with Dicyclohexylcarbodiimide1, 2. *Journal Of The American Chemical Society*, 88(5), 1013-1019.
- [41] DeTar, D. & Silverstein, R. (1966). Reactions of Carbodiimides. II. The Reactions of Dicyclohexylcarbodiimide with Carboxylic Acids in the Presence of Amines and Phenols1, 2. *Journal Of The American Chemical Society*, 88(5), 1020-1023.
- [42] Bernkop-Schnürch, A. (2005). Thiomers: A new generation of mucoadhesive polymers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(11), 1569-1582.
- [43] Bernkop-Schnürch, A. & Thaler, S. (2000). Polycarbophil–Cysteine Conjugates as Platforms for Oral Polypeptide Delivery Systems. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 89(7), 901-909.
- [44] Jocelyn, P. (1972). *Biochemistry of the SH group* (1st ed.). London, New York: Academic Press.
- [45] Hughes, A. (2009). *Amino acids, peptides, and proteins in organic chemistry* (1st ed.). Weinheim: Wiley-VCH.
- [46] Kamber, B., Hartmann, A., Eisler, K., Riniker, B., Rink, H., Sieber, P., & Rittel, W. (1980). The Synthesis of Cystine Peptides by Iodine Oxidation of S-Tryl-cysteine and S-Acetamidomethyl-cysteine Peptides. *Helvetica Chimica Acta*, 63(4), 899-915.
- [47] Volesky, B. (2001). Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. *Hydrometallurgy*, 59(2-3), 203-216.

- [48] Jansson-Charrier, M., Guibal, E., Roussy, J., Delanghe, B., & Le Cloirec, P. (1996). Vanadium (IV) sorption by chitosan: Kinetics and equilibrium. *Water Research*, 30(2), 465-475.
- [49] Arrascue, M., Bauer-Cuya, J., Peirano, F., Roussy, J., & Guibal, E. (2003), Preliminary study of lead sorption by selected sorbents, 15th International, Biohydrometallurgy Symposium (IBS 2003) September 14-19, Athens, *Hellas Biohydrometallurgy: A sustainable technology in evolution*, 235-242.
- [50] Volesky, B. (2003). Sorption and biosorption (1st ed.). St. Lambert, Québec: BV Sorbex.
- [51] Romera, E., González, F., Ballester, A., Blázquez, M., & Muñoz, J. (2006). Biosorption with Algae: A Statistical Review. *Critical Reviews In Biotechnology*, 26(4), 223-235.
- [52] Rincón, J., González, F., Ballester, A., Blázquez, M., & Muñoz, J. (2005). Biosorption of heavy metals by chemically-activated alga *Fucus vesiculosus*. *Journal Of Chemical Technology & Biotechnology*, 80(12), 1403-1407.
- [53] Melinda M., & Valdivia I. (2005). Lead poisoning. *Revista de la Sociedad Peruana de Medicina Interna*, 18(1), 22-27.
- [54] Sanin, H., Cossio, T., & Romieu I., Acumulación de plomo en huesos y sus efectos para la salud. *Salud Pública de México*, 40(4), 359-368.
- [55] Takeno, N. (2005). Atlas of Eh-pH diagrams. *Geological survey of Japan open file report*, 419, 102.
- [56] Agency for Toxic Substances & Disease Registry (ATSDR). (2008). Toxicological Profile for Cadmium. *Division of Toxicology and Environmental Medicine*, Atlanta, GA. Chemical Abstract Service Registry, 7440, 43-9.
- [57] Nriagu, J. (1989). A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature*, 338(6210), 47-49.
- [58] Momčilović, M., Purenović, M., Bojić, A., Zarubica, A., & Randelović, M. (2011). Removal of lead (II) ions from aqueous solutions by adsorption onto pine cone activated carbon. *Desalination*, 276(1), 53-59.
- [59] Abu Al-Rub, F. A., Hamdi, J., Hamdi, N., Allaboun, H., Al Zarooni, M., & Al-Sharyani, M. (2010). Adsorption of phenol on different activated carbons prepared from date pits. *Separation Science and Technology*, 46(2), 300-308.
- [60] Painter, T., Smidsrød, O., Larsen, B., Haug, A., & Paasivirta, J. (1968). A Computer Study of the Changes in Composition-Distribution Occurring during Random Depolymerization of a Binary Linear Heteropolysaccharide. *Acta Chemica Scandinavica*, 22, 1637-1648.
- [61] Smidsrød, O. & Whittington, S. (1969). Monte Carlo Investigation of Chemical Inhomogeneity in Polymers. *Macromolecules*, 2(1), 42-44.
- [62] Larsen, B., Smidsrød, O., Painter, T., Haug, A., Rasmussen, S., Sunde, E., & Sørensen, N. (1970). Calculation of the Nearest-neighbour Frequencies in Fragments of Alginate from the Yields of Free Monomers after Partial Hydrolysis. *Acta Chemica Scandinavica*, 24, 726-728.
- [63] Grasdalen, H. (1983). High-field, ¹H-nmr spectroscopy of alginate: sequential structure and linkage conformations. *Carbohydrate Research*, 118, 255-260.
- [64] Monti A., G. & Garro Linck, Y. (2011). Caracterización por resonancia magnética nuclear de nuevos compuestos farmacéuticos sólidos (Doctorado).

- Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Matemática, Astronomía y Física, Córdoba, Argentina.
- [65] Facey, G. (2009). The Effect of Magic Angle Spinning and High Power ^1H Decoupling on ^{13}C Cross Polarization NMR Experiments. University of Ottawa NMR Facility Blog. Retrieved from <http://u-of-o-nmr-facility.blogspot.pe/2009/01/effect-of-magic-angle-spinning-and-high.html>
- [66] Salomonsen, T., Jensen, H., Larsen, F., Steuernagel, S., & Engelsen, S. (2009). Direct quantification of M/G ratio from ^{13}C CP-MAS NMR spectra of alginate powders by multivariate curve resolution. *Carbohydrate Research*, 344(15), 2014-2022.
- [67] Sarker, B., Papageorgiou, D., Silva, R., Zehnder, T., Gul-E-Noor, F., & Bertmer, M. et al. (2014). Fabrication of alginate–gelatin crosslinked hydrogel microcapsules and evaluation of the microstructure and physico-chemical properties. *Journal Of Materials Chemistry B*, 2(11), 1470.
- [68] Ishida, H. (1987). *Fourier transform infrared characterization of polymers* (1st ed.). New York: Plenum Press.
- [69] Leal, D., Matsuhira, B., Rossi, M., & Caruso, F. (2008). FT-IR spectra of alginic acid block fractions in three species of brown seaweeds. *Carbohydrate Research*, 343(2), 308-316.
- [70] Gómez-Díaz, D. and Navaza, J. (2003). Rheology of aqueous solutions of food additives. *Journal of Food Engineering*, 56(4), 387-392.
- [71] Kulicke, W. & Clasen, C. (2004). *Viscosimetry of polymers and polyelectrolytes* (1st ed.). Berlin: Springer.
- [72] Torres, M., Sousa, A., Silva Filho, E., Melo, D., Feitosa, J., de Paula, R., & Lima, M. (2007). Extraction and physicochemical characterization of Sargassum vulgare alginate from Brazil. *Carbohydrate Research*, 342(14), 2067-2074.
- [73] Masuelli, M., Illanes, O. (2014). Review of the Characterization of Sodium Alginate by Intrinsic Viscosity Measurements. Comparative Analysis between Conventional and Single Point Methods. *International Journal of BioMaterials Science and Engineering*. 1(1), 1-11.
- [74] Brown, M. (1998). *Handbook of thermal analysis and calorimetry* (1st ed.). Amsterdam [Netherlands]: Elsevier.
- [75] Perales, M. & Flores, A. (2012). *Modificación Estructural del Polietiléntereftalato con Ácido Poliláctico. Síntesis de Polímeros Biodegradables* (Maestría). Instituto Politecnico Nacional. Tamaulipas, México.
- [76] Bassett, D. (1981). *Principles of polymer morphology* (1st ed.). Cambridge [England]: Cambridge University Press.
- [77] Paques, J., van der Linden, E., van Rijn, C., & Sagis, L. (2014). Preparation methods of alginate nanoparticles. *Advances In Colloid And Interface Science*, 209, 163-171.
- [78] Perez-Aguilar, N., Diaz-Flores, P., & Rangel-Mendez, J. (2011). The adsorption kinetics of cadmium by three different types of carbon nanotubes. *Journal Of Colloid And Interface Science*, 364(2), 279-287.
- [79] Dill, K. & Bromberg, S. (2003). *Molecular driving forces* (1st ed.). New York: Garland Science.

- [80] Yang, J. & He, W. (2012). Synthesis of lauryl grafted sodium alginate and optimization of the reaction conditions. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 50(2), 428-431.
- [81] Soares, J., Santos, J., Chierice, G., & Cavaleiro, E. (2004). Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt. *Ecletica*, 29(2), 57-63.
- [82] Patel, N., Lalwani, D., Gollmer, S., Injeti, E., Sari, Y., & Nesamony, J. (2016). Development and evaluation of a calcium alginate based oral ceftriaxone sodium formulation. *Progress In Biomaterials*, 5(2), 117-133.
- [83] Kogelheide, F., Kartaschew, K., Strack, M., Baldus, S., Metzler-Nolte, N., & Havenith, M. et al. (2016). FTIR spectroscopy of cysteine as a ready-to-use method for the investigation of plasma-induced chemical modifications of macromolecules. *Journal Of Physics D: Applied Physics*, 49(8), 084004.
- [84] A. Abraham, E. Mihaliuk, B. Kumar, J. Legleiter & T. Gullion. (2010). Solid-State NMR Study of Cysteine on Gold Nanoparticles. *Journal Physical Chemistry*.114 (42), 18109 – 18114.
- [85] M. Spera, F. Quintao, D. Ferraresi, P. P. Corbi. (2011). Palladium (II) complex with S-allyl-L-cysteine: New solid – state NMR spectroscopic measurements, molecular modeling and antibacterial assays. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 78, 313 – 318.
- [86] K. Okuda, I. Urabe, Y. Yamada & H. Okada. (1991). Reaction of Glutaraldehyde with Amino and Thiol Compounds. *Journal of fermentation and Bioengineering*. 71 (2), 100 – 105.
- [87] Balagiannis, D., Methven, L., Elmore, J., & Parker, J. (2015). *Flavour development, analysis and perception in food and beverages* (1st ed.). Cambridge, England: Woodhead Publishing.
- [88] Wang, W., Rusin, O., Xu, X., Kim, K., Escobedo, J., & Fakayode, S. et al. (2005). Detection of Homocysteine and Cysteine. *Journal Of The American Chemical Society*, 127(45), 15949-15958.
- [89] J.P. Murphy, Elwood A., Mullins & T. Kappock. (2016). Functional Dissection of the Bipartite Active Site of the Class I Coenzyme A (CoA) – Transferase Succinyl – CoA: Acetate CoA – Transferase. *Frontiers in chemistry*. 23 (4), 1 – 16.
- [90] Lawrie, G., Keen, I., Drew, B., Chandler-Temple, A., Rintoul, L., Fredericks, P., & Grøndahl, L. (2007). Interactions between Alginate and Chitosan Biopolymers Characterized Using FTIR and XPS. *Biomacromolecules*, 8(8), 2533-2541.
- [91] Johnson, R., Schwartz, T., Dumesic, J., & Schmidt-Rohr, K. (2015). Methionine bound to Pd/ γ -Al₂O₃ catalysts studied by solid-state ¹³C NMR. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 72, 64-72.
- [92] F. Jalievand, N. Sisombath, A. Schell & G. Facey. (2015). Lead (II) Complex Formation with L-Cysteine in Aqueous Solution. *Inorganic Chemistry*. 54 (5), 2160 – 2170.