



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE  
SAN NICOLÁS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN METALURGIA Y MATERIALES

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN METALURGIA Y CIENCIA DE LOS  
MATERIALES

**Microesferas biodegradables de  
quitosano/carboximetilcelulosa obtenidas mediante gelación  
iónica para liberación lenta de  $\text{KNO}_3$**

Tesis que para obtener el Grado de  
Maestra en Metalurgia y Ciencias de los Materiales presenta:

I.Q. Perla Guadalupe Castro García

Directora de Tesis

Dra. Ena Athenea Aguilar Reyes

Morelia, Mich. Diciembre de 2022

## ÍNDICE GENERAL

|                                                                                                      |      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ÍNDICE GENERAL.....                                                                                  | i    |
| ÍNDICE DE FIGURAS.....                                                                               | iv   |
| ÍNDICE DE TABLAS .....                                                                               | vii  |
| RESUMEN .....                                                                                        | viii |
| ABSTRACT.....                                                                                        | ix   |
| 1. INTRODUCCIÓN .....                                                                                | 1    |
| 1.1    Objetivos .....                                                                               | 2    |
| 1.2    Justificación.....                                                                            | 3    |
| 1.3    Hipótesis.....                                                                                | 3    |
| 1.4    Metas científicas.....                                                                        | 4    |
| 2. REVISIÓN Y DISCUSIÓN DEL ESTADO DEL ARTE .....                                                    | 5    |
| 2.1    Agricultura tradicional y su impacto en el medio ambiente.....                                | 5    |
| 2.2    Fisiología vegetal .....                                                                      | 6    |
| 2.2.1 <i>Mecanismos de transporte de nutrientes en las plantas</i> .....                             | 7    |
| 2.2.2 <i>Macronutrientes y micronutrientes</i> .....                                                 | 7    |
| 2.2.3 <i>Escasez y exceso de nutrientes en las plantas</i> .....                                     | 9    |
| 2.3    Importancia de los fertilizantes.....                                                         | 10   |
| 2.3.1 <i>KNO<sub>3</sub> como fertilizante</i> .....                                                 | 11   |
| 2.4    Materiales utilizados para la liberación controlada de agentes activos en la agricultura..... | 11   |
| 2.4.1 <i>Polímeros</i> .....                                                                         | 12   |
| 2.4.1.1 <i>Quitano</i> .....                                                                         | 13   |
| 2.4.1.2 <i>Carboximetilcelulosa</i> .....                                                            | 15   |
| 2.5    Microesferas como sistemas de liberación controlada .....                                     | 16   |
| 2.5.1 <i>Método de gelación iónica</i> .....                                                         | 17   |
| 2.5.2 <i>Mecanismos de liberación a través de matrices poliméricas biodegradables</i> .....          | 18   |
| 2.5.3 <i>Solubilidad</i> .....                                                                       | 19   |
| 2.5.4 <i>Hinchamiento o swelling</i> .....                                                           | 19   |
| 2.5.5 <i>Porcentaje de carga de agente activo en las microesferas</i> .....                          | 20   |
| 2.5.6 <i>Factores que intervienen en la liberación de agentes activos en suelo</i> .....             | 20   |
| 2.6    Modelos cinéticos de liberación de agentes activos.....                                       | 21   |
| 2.6.1 <i>Modelo de orden cero</i> .....                                                              | 22   |

|       |                                                                                       |    |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.6.2 | <i>Modelo de orden 1</i> .....                                                        | 22 |
| 2.6.3 | <i>Modelo de Higuchi</i> .....                                                        | 22 |
| 2.6.4 | <i>Modelo de Hixon-Crowell</i> .....                                                  | 23 |
| 2.6.5 | <i>Modelo de Korsmeyer-Peppas</i> .....                                               | 23 |
| 2.7   | Discusión de estado del arte .....                                                    | 24 |
| 3     | DESARROLLO EXPERIMENTAL .....                                                         | 31 |
| 3.4   | Materiales de estudio .....                                                           | 31 |
| 3.5   | Desarrollo experimental .....                                                         | 31 |
| 3.6   | Técnicas experimentales.....                                                          | 32 |
| 3.6.1 | <i>Matrices poliméricas</i> .....                                                     | 32 |
| 3.6.2 | <i>Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)</i> .....             | 35 |
| 3.6.3 | <i>Difracción de rayos X (XRD)</i> .....                                              | 35 |
| 3.6.4 | <i>Análisis termogravimétrico/ Calorimetría diferencial de barrido (TG/DSC)</i> ..... | 35 |
| 3.6.5 | <i>Microscopía electrónica de barrido (SEM)</i> .....                                 | 35 |
| 3.6.6 | <i>Ensayos de liberación de agente activo en agua.</i> .....                          | 36 |
| 3.7   | Procedimientos analíticos .....                                                       | 36 |
| 3.4.1 | <i>Rendimiento de producción de microesferas.</i> .....                               | 36 |
| 3.4.2 | <i>Fracción soluble en agua</i> .....                                                 | 37 |
| 3.4.3 | <i>Porcentaje de hinchamiento</i> .....                                               | 37 |
| 3.4.4 | <i>Porcentaje de carga</i> .....                                                      | 38 |
| 4     | RESULTADOS.....                                                                       | 39 |
| 4.1   | Caracterización de microesferas sin carga .....                                       | 39 |
| 4.1.1 | <i>Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)</i> .....             | 39 |
| 4.1.2 | <i>Difracción de rayos X (XRD)</i> .....                                              | 44 |
| 4.1.3 | <i>Análisis termogravimétrico/ Calorimetría diferencial de barrido (TG/DSC)</i> ..... | 47 |
| 4.1.4 | <i>Microscopía electrónica de barrido (SEM)</i> .....                                 | 55 |
| 4.1.5 | <i>Rendimiento de polímeros</i> .....                                                 | 61 |
| 4.1.6 | <i>Fracción soluble en agua</i> .....                                                 | 62 |
| 4.1.7 | <i>Porcentaje de hinchamiento</i> .....                                               | 63 |
| 4.2   | Caracterización de microesferas con carga .....                                       | 64 |
| 4.2.1 | <i>Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)</i> .....             | 64 |
| 4.2.2 | <i>Difracción de rayos X (XRD)</i> .....                                              | 67 |
| 4.2.3 | <i>Análisis termogravimétrico/ Calorimetría diferencial de barrido (TG/DSC)</i> ..... | 69 |

|       |                                                       |    |
|-------|-------------------------------------------------------|----|
| 4.2.4 | <i>Microscopía electrónica de barrido (SEM)</i> ..... | 74 |
| 4.2.5 | <i>Porcentaje de carga</i> .....                      | 78 |
| 4.2.6 | <i>Ensayos de liberación de agente activo</i> .....   | 79 |
| 5     | CONCLUSIONES .....                                    | 84 |
|       | RECOMENDACIONES Y TRABAJO FUTURO .....                | 87 |
|       | REFERENCIAS.....                                      | 88 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                    |                                                                                                                        |    |
|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 2.1</b>  | Estructura general de las plantas                                                                                      | 6  |
| <b>Figura 2.2</b>  | Clasificación de los polímeros naturales según su fuente                                                               | 12 |
| <b>Figura 2.3</b>  | Desacetilación de la quitina para obtener quitosano                                                                    | 13 |
| <b>Figura 2.4</b>  | Posibles mecanismos de degradación de la estructura del quitosano                                                      | 14 |
| <b>Figura 2.5</b>  | Molécula de carboximetilcelulosa sódica                                                                                | 15 |
| <b>Figura 2.6</b>  | Ruta de degradación enzimática de la carboximetilcelulosa                                                              | 16 |
| <b>Figura 2.7</b>  | Micropartículas                                                                                                        | 17 |
| <b>Figura 3.1</b>  | Diagrama de bloques del desarrollo experimental                                                                        | 31 |
| <b>Figura 3.2</b>  | Esquema del sistema de goteo                                                                                           | 33 |
| <b>Figura 3.3</b>  | Microesferas a) inmersas en solución de $\text{KNO}_3$ , b) filtradas, c) secas.                                       | 34 |
| <b>Figura 4.1</b>  | FTIR de a) tripolifosfato de sodio (TPP), b) quitosano (CS) y c) carboximetilcelulosa (CMC).                           | 40 |
| <b>Figura 4.2</b>  | FTIR de las microesferas de quitosano obtenidas a diferentes tiempos a) a 4 horas (CS-4) y b) a 2 horas (CS-2).        | 41 |
| <b>Figura 4.3</b>  | FTIR de las microesferas sin carga obtenidas a 2 h de entrecruzamiento.                                                | 42 |
| <b>Figura 4.4</b>  | FTIR de las microesferas sin carga obtenidas a 4 h de entrecruzamiento.                                                | 43 |
| <b>Figura 4.5</b>  | Formación de enlaces amida entre el CS y CMC.                                                                          | 43 |
| <b>Figura 4.6</b>  | Difractogramas de rayos X de a) tripolifosfato de sodio (TPP), b) quitosano puro (CS) y c) carboximetilcelulosa (CMC). | 45 |
| <b>Figura 4.7</b>  | Difractogramas de rayos X de las microesferas sin carga.                                                               | 46 |
| <b>Figura 4.8</b>  | Curvas TGA/DTG de a) quitosano (CS) y b) carboximetilcelulosa (CMC).                                                   | 47 |
| <b>Figura 4.9</b>  | Diagrama termoanalítico de las microesferas sin carga obtenidas a 2 h.                                                 | 48 |
| <b>Figura 4.10</b> | Diagrama termoanalítico de las microesferas sin carga obtenidas a 2 h.                                                 | 49 |
| <b>Figura 4.11</b> | Curvas TGA/DTG de la muestra CS8/CMC2-2.                                                                               | 51 |
| <b>Figura 4.12</b> | Curvas DSC de a) quitosano puro (CS) y b) carboximetilcelulosa (CMC).                                                  | 52 |
| <b>Figura 4.13</b> | Curvas DSC de las microesferas sin carga obtenidas a 2 h.                                                              | 53 |

|                    |                                                                                                                                                                |    |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 4.14</b> | Curvas DSC de las microesferas sin carga obtenidas a 4 h.                                                                                                      | 54 |
| <b>Figura 4.15</b> | Micrografías de a) CS-2 a 25X, b) CS-2 a 100X, c) CS-4 a 25X y d) CS-4 a 100X.                                                                                 | 55 |
| <b>Figura 4.16</b> | Micrografías a 25 X de a) CS8/CMC2-2, b) CS7/CMC3-2 y c) CS5/CMC5-2 y micrografías a 100X de d) CS8/CMC2-2, e) CS7/CMC3-2 y f) CS5/CMC5-2.                     | 56 |
| <b>Figura 4.17</b> | Micrografías a 25 X de a) CS8/CMC2-4, b) CS7/CMC3-4 y c) CS5/CMC5-4 y micrografías a 100X de d) CS8/CMC2-4, e) CS7/CMC3-4 y f) CS5/CMC5-4.                     | 56 |
| <b>Figura 4.18</b> | Micrografías de a) CS6/CMC4-2 a 25X, b) CS6/CMC4-2 a 100X, c) CS6/CMC4-4 a 25X y d) CS6/CMC4-4 a 100X.                                                         | 57 |
| <b>Figura 4.19</b> | Histograma y gráfica de frecuencia de a) CS8/CMC2-2, b) CS8/CMC2-4, c) CS7/CMC3-2, d) CS7/CMC3-4, e) CS6/CMC4-2, f) CS6/CMC4-4, g) CS5/CMC5-2 y h) CS5/CMC5-4. | 60 |
| <b>Figura 4.20</b> | FTIR de nitrato de potasio grado agrícola.                                                                                                                     | 65 |
| <b>Figura 4.21</b> | FTIR de las microesferas con carga obtenidas a 2 h de entrecruzamiento                                                                                         | 66 |
| <b>Figura 4.22</b> | FTIR de las microesferas con carga obtenidas a 4 h de entrecruzamiento                                                                                         | 66 |
| <b>Figura 4.23</b> | Difractogramas de rayos X del KNO <sub>3</sub>                                                                                                                 | 67 |
| <b>Figura 4.24</b> | Difractogramas de rayos X de las microesferas con carga.                                                                                                       | 68 |
| <b>Figura 4.25</b> | Diagramas termoanalíticos de las microesferas con carga obtenidas a 2 h de entrecruzamiento                                                                    | 69 |
| <b>Figura 4.26</b> | Diagramas termoanalíticos de las microesferas con carga obtenidas a 2 h de entrecruzamiento                                                                    | 70 |
| <b>Figura 4.27</b> | TGA/DTG de la muestra CS8-4C.                                                                                                                                  | 70 |
| <b>Figura 4.28</b> | Curvas DSC de las diferentes microesferas con carga obtenidas a 2 h de entrecruzamiento.                                                                       | 73 |
| <b>Figura 4.29</b> | Curvas DSC de las diferentes microesferas con carga obtenidas a 2 h de entrecruzamiento.                                                                       | 73 |
| <b>Figura 4.30</b> | Nitrato de potasio a a) 20X y b) 500X                                                                                                                          | 75 |
| <b>Figura 4.31</b> | Microesferas de CS8-2C a) 25X, b) 100X, c) 500X y CS8-4C, d) 25X, e) 100X, f) 500X                                                                             | 75 |

|                    |                                                                                                  |    |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 4.32</b> | Microesferas CS7-2C a) 25X, b) 100X, c) 500X y CS7-4C, d) 25X, e) 100X, f) 500X                  | 76 |
| <b>Figura 4.33</b> | Microesferas CS6-2C a) 25X, b) 100X, c) 500X y CS6-4C, d) 25X, e) 100X, f) 500X                  | 76 |
| <b>Figura 4.34</b> | Microesferas CS6-2C a) 25X, b) 100X, c) 500X y CS6-4C, d) 25X, e) 100X, f) 500X                  | 77 |
| <b>Figura 4.35</b> | Curva de calibración de conductividad eléctrica a diferentes concentraciones de $\text{KNO}_3$ . | 79 |
| <b>Figura 4.36</b> | Perfil de disolución de $\text{KNO}_3$ en agua desionizada.                                      | 80 |
| <b>Figura 4.37</b> | Perfiles de liberación de $\text{KNO}_3$ desde las microesferas.                                 | 81 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                   |                                                                                        |    |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla 2.1</b>  | Funciones principales de los órganos de las plantas.                                   | 6  |
| <b>Tabla 2.2</b>  | Macroelementos y sus funciones principales.                                            | 8  |
| <b>Tabla 2.3</b>  | Microelementos y sus funciones.                                                        | 9  |
| <b>Tabla 3.1</b>  | Composición de las matrices poliméricas y tiempo de entrecruzamiento.                  | 32 |
| <b>Tabla 3.2.</b> | Nomenclatura de las microesferas con carga.                                            | 34 |
| <b>Tabla 4.1.</b> | Etapas de descomposición térmica de las microesferas sin carga.                        | 50 |
| <b>Tabla 4.2</b>  | Transiciones térmicas de las microesferas obtenidas a 2 h.                             | 53 |
| <b>Tabla 4.3.</b> | Transiciones térmicas de las microesferas obtenidas a 4 h.                             | 55 |
| <b>Tabla 4.4</b>  | Datos estadísticos sobre los diámetros en $\mu\text{m}$ de las microesferas sin carga. | 58 |
| <b>Tabla 4.5</b>  | Porcentajes de rendimiento de los polímeros.                                           | 61 |
| <b>Tabla 4.6</b>  | Fracción soluble en agua de las microesferas sin carga.                                | 62 |
| <b>Tabla 4.7</b>  | Porcentaje de hinchamiento de las microesferas sin carga.                              | 64 |
| <b>Tabla 4.8</b>  | DTG – temperaturas máximas de descomposición de las microesferas con carga.            | 71 |
| <b>Tabla 4.9</b>  | Etapas de descomposición térmica de las microesferas con carga.                        | 72 |
| <b>Tabla 4.10</b> | Transiciones térmicas de las microesferas con carga.                                   | 74 |
| <b>Tabla 4.11</b> | Porcentaje que representa el $\text{KNO}_3$ en las microesferas con carga.             | 78 |
| <b>Tabla 4.12</b> | Ajuste a modelos cinéticos de liberación del $\text{KNO}_3$ .                          | 81 |

## RESUMEN

Una de las principales estrategias implementadas a nivel mundial para atender la escasez de alimentos, es el uso de agroquímicos, sin embargo, en las formulaciones convencionales el principio activo se libera de forma inmediata, dando lugar a procesos de degradación, inmovilización prematura, volatilización, evaporación y lixiviación de productos químicos. En este trabajo de investigación se realizó la síntesis de microesferas a base de quitosano (CS) y carboximetilcelulosa (CMC) para eficientar la liberación lenta de  $\text{KNO}_3$ . La investigación se desarrolló en tres etapas: 1) síntesis de matrices poliméricas de quitosano/carboximetilcelulosa por el método de gelación iónica y carga con  $\text{KNO}_3$  por inmersión, 2) caracterización de: microestructura por difracción de rayos X, morfología por la técnica de microscopía electrónica de barrido y de grupos funcionales presentes por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, así como análisis termogravimétrico/calorimetría diferencial de barrido para las microesferas con y sin carga, 3) Procedimientos analíticos como cuantificación de rendimiento de los polímeros utilizados, determinación del porcentaje de hinchamiento, fracción soluble en agua, porcentaje de carga y ensayos de liberación de agente activo, así como el ajuste a modelos cinéticos de liberación. Los resultados obtenidos por FTIR y XRD, demostraron que las microesferas presentan interacciones entre los polímeros formando matrices altamente entrecruzadas, a pesar de esto, las microesferas sin carga pueden absorber hasta 1.5 veces su peso en agua. Por otro lado, se encontró que a mayor entrecruzamiento incrementa la temperatura a la cual las muestras sufren despolimerización. El tamaño promedio de las microesferas fue  $622.4 \pm 52.8 \mu\text{m}$  y exhibieron morfología esférica. La cuantificación de porcentaje de carga evidenció que el agente activo puede representar hasta el 68% del peso total de la microesfera. En cuanto a los tiempos de liberación, resultaron hasta 5 veces más prolongados respecto al  $\text{KNO}_3$  convencional. El ajuste a los modelos cinéticos de liberación demostró que los principales factores que intervienen en la liberación y disolución del  $\text{KNO}_3$  cargado en las microesferas se relacionan con el hinchamiento y la erosión de la matriz en condiciones de un medio acuoso, lo que indica que las microesferas de CS/CMC son adecuadas para aplicaciones en la agricultura.

**Palabras clave:** *microesferas, quitosano, carboximetilcelulosa, liberación lenta, gelación iónica.*

## ABSTRACT

One of the main strategies implemented worldwide to address global food shortages is the use of agrochemicals, however, in conventional formulations the active ingredient is released immediately, leading to degradation processes, premature immobilization, volatilization, evaporation and leaching of chemicals. In this research work, the synthesis of microspheres based on chitosan (CS) and carboxymethylcellulose (CMC) was carried out to improve the slow release of  $\text{KNO}_3$ . The research was developed in three stages: 1) synthesis of chitosan/carboxymethylcellulose polymeric matrices by the ionic gelation method and loading with  $\text{KNO}_3$  by immersion, 2) characterization of: microstructure by X-ray diffraction, morphology by electron microscopy technique scanning and of functional groups present by Fourier transform infrared spectroscopy, as well as thermogravimetric analysis / Differential Scanning Calorimetry for microspheres with and without charge, 3) Analytical procedures such as quantification of performance of the polymers used, determination of the percentage of swelling, water soluble fraction, load percentage and active agent release tests as well as the adjustment to kinetic models of release. The results obtained by FTIR and XRD showed that the microspheres present interactions between the polymers forming highly cross-linked matrices, despite this, the uncharged microspheres can absorb up to 1.5 times their weight in water. On the other hand, it was found that the higher the crosslinking, the higher the temperature at which the samples undergo depolymerization. The average size of the microspheres was  $622.4 \pm 52.8 \mu\text{m}$  and they exhibited a spheroidal morphology. The load percentage quantification showed that the active agent can represent up to 68% of the total weight of the microsphere. In terms of release times, they were up to 5 times longer than conventional  $\text{KNO}_3$ . The adjustment to the release kinetic models showed that the main factors involved in the release and dissolution of the  $\text{KNO}_3$  loaded in the microspheres are related to the swelling and erosion of the matrix under conditions of an aqueous medium, indicating that CS/CMC microspheres are suitable for agricultural applications.

**Keywords:** *microspheres, chitosan, carboxymethylcellulose, slow release, ionic gelation.*

## 1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha elevado el uso de fertilizantes para remediar la baja productividad de diversos cultivos alrededor del mundo. Los efectos secundarios del uso excesivo de estos han causado preocupación a nivel mundial. Una de las propuestas para remediar esta problemática es el empleo de fertilizantes de liberación controlada (FLC) y los fertilizantes de liberación lenta (FLL) [1]. Por tal motivo en los últimos años se han desarrollado diversas investigaciones en la que se propone el uso de polímeros naturales para la creación de matrices que permitan la liberación lenta de un agente activo [2].

En el presente trabajo se propone la síntesis de microesferas obtenidas a partir de una mezcla de quitosano/carboximetilcelulosa para la liberación lenta de  $\text{KNO}_3$  que es uno de los fertilizantes más utilizados para promover el crecimiento de las plantas. Los polímeros utilizados para este trabajo se eligieron por sus excelentes propiedades fisicoquímicas, de biocompatibilidad y su capacidad para formar geles [3,4].

En el primer capítulo se presentan los objetivos que se plantearon en esta investigación, así como la justificación de la misma, que parte de la necesidad de utilizar métodos de obtención que no representen riesgos para el medio ambiente y la salud humana, así como que la relación costo/beneficio sea favorable para los agricultores. En el primer capítulo también se presenta la hipótesis planteada y las metas científicas.

En el segundo capítulo se exponen los conceptos fundamentales relacionados con el impacto de los fertilizantes en la agricultura, los materiales y métodos que se han desarrollado para la obtención de sistemas que permiten la liberación lenta, así como algunos ensayos que permiten conocer su efectividad.

El tercer capítulo está dedicado a describir el método de gelación iónica por el cual se obtuvieron las microesferas, el cual es un método que aprovecha la estructura química de los polímeros aniónicos y catiónicos y no requiere el uso de solventes orgánicos como reactivos [5,6]. También en este capítulo se describen las técnicas de caracterización y procedimientos analíticos a los cuales se sometieron las microesferas con y sin carga.

En el cuarto capítulo se presenta la discusión de los resultados obtenidos a partir de la caracterización y procedimientos analíticos, es decir la descripción detallada de la morfología, estructura y composición de las microesferas, así como su comportamiento térmico y datos sobre fracción solubilizada e hinchamiento a tiempos definidos y finalmente los perfiles de liberación de agente activo.

Por último, en el capítulo cinco se exponen las principales conclusiones a las que se ha llegado a partir de este trabajo de investigación.

## **1.1 Objetivos**

### **Objetivo general**

Obtener microesferas biodegradables de quitosano/carboximetilcelulosa mediante el método de gelación iónica para liberación lenta de  $\text{KNO}_3$ .

### **Objetivos específicos**

1. Sintetizar microesferas con diferentes concentraciones de quitosano y carboximetilcelulosa por el método de gelación iónica.
2. Realizar la carga del agente activo en las microesferas por inmersión en una solución de  $\text{KNO}_3$ .
3. Cuantificar el porcentaje de carga del agente activo.
4. Determinar los grupos funcionales presentes en las microesferas con y sin carga, así como su estructura y morfología por las técnicas de caracterización: Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), Difracción de Rayos X (XRD) y Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).
5. Estudiar el comportamiento térmico de las microesferas mediante Análisis Termogravimétrico (TGA/DTG) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).
6. Cuantificar la capacidad de absorción y la fracción soluble en agua de las microesferas.
7. Realizar ensayos de liberación del  $\text{KNO}_3$  en medio acuoso.

## **1.2 Justificación**

Basado en los indicadores de diversas organizaciones mundiales, el crecimiento poblacional aumentará en los próximos años y con esto también la demanda de alimentos. La preocupación por la disminución de la productividad de los campos ha provocado especial atención en el sector agrícola para la detección de los factores que afectan a los cultivos, así como para buscar las posibles soluciones y formas de prevenir estos problemas [7].

Los datos del censo agropecuario realizados en 2020 en México indican que aproximadamente el 25% de la pérdida en la producción agrícola nacional se debe a la reducción de la fertilidad del suelo, así como a la propagación de plagas y enfermedades. Tal es su efecto que para el año 2050 se espera una pérdida en la producción agrícola a nivel nacional de hasta 15.000 millones de pesos. [8].

Se conoce que formulaciones convencionales de fertilizantes de  $\text{KNO}_3$  para cultivos de alto valor, no se aprovechan eficientemente por las plantas antes de que factores naturales produzcan lixiviados contaminados con nitrato de potasio [9]. El consumo total de fertilizantes en 2014 se estimó en 184.67 millones de toneladas y se prevé que alcance un crecimiento sucesivo del 1.6 % anual [10].

Por lo anterior, el uso de polímeros como el quitosano y la carboximetilcelulosa para la síntesis de microesferas que sirvan de soporte para la creación de un sistema de liberación lenta de nitrato de potasio pueden ser una solución viable para asegurar el aprovechamiento de los nutrientes en un cultivo sin tener un impacto ambiental dañino y ser más seguro para la salud humana. Adicionalmente, el método de síntesis propuesto podría tener ventajas económicas para la producción a gran escala debido al bajo costo de los reactivos y la sencillez del proceso [11].

## **1.3 Hipótesis**

La síntesis de microesferas de quitosano/carboximetilcelulosa por el método de gelación iónica, constituye un sistema de liberación lenta, que es además biodegradable y de bajo costo. Este sistema puede ser aplicado en la agricultura para incrementar la eficiencia del uso

de fertilizantes como el  $\text{KNO}_3$  gracias a las tasas de liberación más efectivas, asociadas a los tiempos más prolongados de relajación de las cadenas poliméricas que son logrados por el alto entrecruzamiento producido por la interacción de los grupos amino presentes en el quitosano y el grupo funcional carboxilo presente en la carboximetilcelulosa.

#### **1.4 Metas científicas**

- Obtener microesferas con diámetro promedio de 400 a 800  $\mu\text{m}$ , sometiendo las muestras a tiempos de entrecruzamiento de 2 y 4 horas.
- Lograr un porcentaje de carga de entre el 45 – 70%, obteniendo microesferas con capacidad de hinchamiento de al menos el doble de su peso seco sin carga.
- Lograr tiempos de liberación de agente activo de al menos 20% mayor al del  $\text{KNO}_3$  en su forma convencional, alcanzando un mayor entrecruzamiento entre los polímeros que permita una liberación más lenta.

## **2. REVISIÓN Y DISCUSIÓN DEL ESTADO DEL ARTE**

En este capítulo se presentan los conceptos fundamentales relacionados con la tecnología de los fertilizantes de liberación lenta y las microesferas, así como los métodos empleados actualmente para su obtención, también se abordan los factores que intervienen en la liberación del agente activo y finalmente se describe la importancia de los procedimientos analíticos que se utilizaron para cuantificar la solubilidad, porcentaje de hinchamiento y porcentaje de carga de las microesferas.

### **2.1 Agricultura tradicional y su impacto en el medio ambiente.**

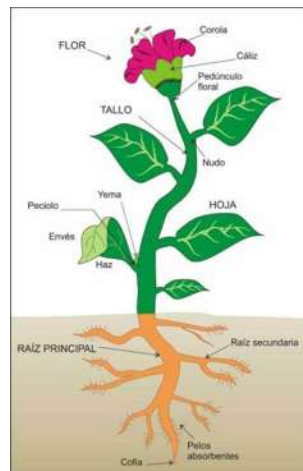
La industria agrícola es la de mayor tamaño en el mundo actualmente y requiere una extensión global de ~ 40% de la tierra disponible [12], ésta juega un papel central en el desarrollo económico de un país [13]. Diversos organismos mundiales consideran fundamental el derecho al acceso a alimentos sanos y nutritivos [14]. Además, los productos alimenticios a base de cultivos constituyen cerca del 78% del promedio de las necesidades energéticas per cápita en todo el mundo [15, 16].

Aunque el sector agrícola proporciona a la humanidad alimentos y fibras, también convierten a la industria agrícola en el mayor consumidor de agua, y producto de la intensificación de las actividades agrícolas por la alta demanda dietética, se ha incrementado la contaminación del aire y el agua y, en algunos casos, reducido el crecimiento de la productividad debido a la degradación del suelo y el agua [17, 18].

De igual forma, las actividades agrícolas a gran escala pueden tener repercusiones de forma directa en la salud laboral de los agricultores, así como de forma indirecta, en la salud de los consumidores a través de la ingesta de alimentos [19]. Se sabe que elementos potencialmente tóxicos (PTE), como metales pesados y metaloides, liberados por actividades agrícolas, son una de las principales fuentes de contaminación del suelo y los vegetales [20].

## 2.2 Fisiología vegetal

La fisiología vegetal es la rama de la botánica que se dedica a estudiar el funcionamiento y desarrollo de los vegetales, también estudia la relación entre los factores ambientales y la planta [21]. Las principales estructuras u "órganos" que se encuentran en las plantas son las hojas, los tallos y las raíces tal como se muestra en la Figura 2.1. Están hechos a partir de grupos de tejidos especializados [22].



**Figura 2.1** Estructura general de las plantas [22].

En la Tabla 2.1 se muestran las funciones principales que desarrolla cada parte de las plantas, así como las partes en las que se subdividen.

**Tabla 2.1** Funciones principales de los órganos de las plantas [22].

| Estructura    | Función                                                                                                                                                                                                         |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Hojas</b>  | <ul style="list-style-type: none"><li>• Acortar distancias para la difusión de gases</li><li>• Proveer un área grande para la absorción de luz</li><li>• Sitio principal donde ocurre la fotosíntesis</li></ul> |
| <b>Tallos</b> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Transportan agua y minerales a las hojas</li><li>• Transportan azúcares a las raíces, frutos y flores</li></ul>                                                         |
| <b>Raíces</b> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Proporcionan anclaje al suelo</li><li>• Permiten la absorción y transporte de agua y nutrientes</li></ul>                                                               |

### ***2.2.1 Mecanismos de transporte de nutrientes en las plantas***

Las plantas no necesariamente crecen en busca de nutrientes, sino que éstos deben llegar a la raíz de la planta para ser absorbidos por la gran cantidad de raíces radicales que, asistidas por hongos conocidos como micorrizas, ayudan al movimiento de los nutrientes a través de la planta. Los mecanismos que se llevan a cabo para el transporte de los nutrientes desde la raíz a la superficie son: 1) intercepción de raíces, 2) flujo másico y 3) difusión.

- 1) Intercepción de raíces: Las partículas de suelo forman agregados que contienen la mayoría de los nutrientes de las plantas. Las raíces generalmente no entran en contacto con un gran porcentaje de la superficie de los agregados del suelo, esto provoca que pocos nutrientes lleguen a la superficie siguiendo este mecanismo.
- 2) Flujo de masa: Impulsado por el proceso fisiológico de la transpiración, el agua se mueve desde los poros del suelo hasta la raíz de la planta. El agua del suelo contiene tres iones cargados negativamente de nitrógeno (nitrato), azufre (sulfato) y boro (borato). Parte del agua y los nutrientes contenidos se mueven por debajo de la zona de las raíces. Este proceso se conoce como lixiviación.
- 3) Difusión: Para los nutrientes esenciales que tienen una carga eléctrica positiva cuando se disuelven en el agua del suelo, el principal mecanismo de movimiento de los nutrientes hacia la superficie de la raíz es el muy lento proceso de difusión. Los nutrientes cargados positivamente son potasio ( $K^+$ ), calcio ( $Ca^{++}$ ), magnesio ( $Mg^{++}$ ) y los micronutrientes, excepto el boro. Los iones de nutrientes cargados positivamente se difunden desde la superficie de las arcillas en los agregados del suelo hasta la superficie de la raíz [23].

### ***2.2.2 Macronutrientes y micronutrientes***

Por lo general, todos los tipos de suelos tienen las condiciones necesarias para proporcionar a las plantas los nutrientes que necesitan. Sin embargo, debido a factores como los métodos de cultivo intensivo, los nutrientes del suelo se agotan [24]. Los elementos necesarios para el crecimiento de las plantas se pueden clasificar en: macronutrientes y micronutrientes.

Elementos como: nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, calcio y magnesio (macronutrientes) se encuentran en los tejidos de las plantas en menores cantidades que el carbono, el hidrógeno y el oxígeno, por otro lado, la cantidad de estos elementos presentes en los tejidos, es mucho mayor en comparación con la proporción de micronutrientes presentes en las plantas. Los principales macronutrientes y las principales funciones que tiene para el desarrollo de las plantas se muestran en la Tabla 2.2.

**Tabla 2.2** Macroelementos y sus funciones principales [24].

| <b>Elementos</b>   |                      | <b>Funciones principales</b>                                                                                                                                                                                                                            |
|--------------------|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Primarios</b>   | <b>Nitrógeno (N)</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Principal macronutriente, la planta, requiere más N que cualquier otro nutriente.</li> <li>• Está relacionado con la fotosíntesis</li> <li>• Favorece el crecimiento de tallos y hojas.</li> </ul>             |
|                    | <b>Fósforo (P)</b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se utiliza para la formación de la molécula ATP</li> <li>• Participa en la síntesis de nucleótidos ADN y ARN</li> <li>• Mejora la eficiencia del uso del agua.</li> </ul>                                      |
|                    | <b>Potasio (K)</b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Favorece el crecimiento vegetativo</li> <li>• Participa en la activación enzimática, regulando el agua que retiene en los tejidos.</li> </ul>                                                                  |
| <b>Secundarios</b> | <b>Magnesio (Mg)</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Es de vital importancia para la formación de clorofila.</li> <li>• Influye en la regulación del agua</li> <li>• Beneficia la coloración de la hoja.</li> </ul>                                                 |
|                    | <b>Azufre (S)</b>    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Activa el crecimiento.</li> <li>• Participa en la formación de la clorofila.</li> <li>• Ayuda a un desarrollo más eficiente de la simbiosis planta-bacteria que asimilan el nitrógeno del ambiente.</li> </ul> |
|                    | <b>Calcio (Ca)</b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fortalece la pared celular.</li> <li>• Protege las membranas contra daños</li> <li>• Brinda mayor resistencia a la planta.</li> </ul>                                                                          |

Los microelementos son aquellos elementos requeridos en pequeñas cantidades para el crecimiento de las plantas y son suministrados en menores porciones cuando no puedan ser provistos por el propio suelo. Éstos cumplen funciones esenciales para el desarrollo y crecimiento de los cultivos [25]. Los principales microelementos y las funciones principales que éstos realizan se muestran en la Tabla 2.3

**Tabla 2.3** Microelementos y sus funciones [25].

| <b>Elemento</b>       | <b>Funciones principales</b>                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Hierro (Fe)</b>    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cumple la función de catalizador del proceso de respiración y de la formación de la clorofila en las plantas.</li> </ul>                                                                                                                                        |
| <b>Manganeso (Mn)</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Es responsable de la formación de clorofila y las reacciones de óxido-reducción en los tejidos vegetales.</li> </ul>                                                                                                                                            |
| <b>Zinc (Zn)</b>      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Está implicado en la síntesis del triptófano y la formación de pigmentos flavonoides y del ácido ascórbico.</li> </ul>                                                                                                                                          |
| <b>Cobre (Cu)</b>     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Activa algunas enzimas con diversas propiedades.</li> <li>• Estabiliza la clorofila y la fijación simbiótica del nitrógeno atmosférico (N<sub>2</sub>) en las leguminosas.</li> </ul>                                                                           |
| <b>Boro (B)</b>       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Influencia procesos fisiológicos relacionados con el control hormonal.</li> <li>• Interviene en la producción de ácidos nucleicos y fitohormonas, el movimiento de los azúcares vegetales, el metabolismo de los hidratos de carbono y su migración.</li> </ul> |
| <b>Molibdeno (Mo)</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ayuda a la formación de aminoácidos y proteínas.</li> <li>• Propicia la fijación simbiótica del nitrógeno atmosférico en las plantas.</li> <li>• Es un elemento imprescindible para la formación de clorofila.</li> </ul>                                       |

### **2.2.3 Escasez y exceso de nutrientes en las plantas**

Es complicado mantener un nivel adecuado de nutrientes en el suelo, tomando en cuenta los mecanismos que siguen las plantas para obtener los elementos que requieren. El empleo de fertilizantes ha sido una forma de remediar las deficiencias de algunos nutrientes, para evitar el decaimiento de la producción de algunos cultivos.

Si bien las deficiencias de nutrientes pueden representar grandes problemas para los agricultores, los nutrientes pueden volverse tóxicos en exceso, lo que también es problemático [26]. Cuando algunos micronutrientes se acumulan a niveles muy altos en las plantas, contribuyen a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que pueden causar un daño celular extenso. Algunos elementos altamente tóxicos como el plomo y el cadmio no se pueden distinguir de los nutrientes esenciales por los sistemas de absorción de nutrientes en la raíz de la planta, lo que significa que, en suelos contaminados, los elementos tóxicos pueden ingresar a la red alimentaria a través de estos sistemas de absorción de nutrientes [27].

### **2.3 Importancia de los fertilizantes**

A medida que la población aumenta rápidamente, para satisfacer la creciente necesidad de alimentos, la industria agrícola tiene como reto abastecer la nueva demanda, esto depende de la nutrición de la planta. El uso de fertilizantes es una forma de suministrar estos nutrientes [28]. El consumo total de nutrientes fertilizantes se prevé que alcance un crecimiento sucesivo del 1.6 % anual, por lo tanto, para el 2020 el consumo mundial de fertilizante se estimó en 200 millones de toneladas [10].

En la mayoría de los cultivos, la fertilización se lleva a cabo aplicando los nutrientes directamente al suelo. La efectividad en el control del abastecimiento de nutrientes, el incremento de la eficiencia en el uso de fertilizantes y la reducción de problemas ambientales, dependen principalmente de dos requerimientos: 1) igualar el abastecimiento de nutrientes con la demanda de nutrientes de las plantas y 2) mantener la disponibilidad de nutrientes durante todas las etapas de crecimiento de las plantas [29].

Una de las propuestas para solucionar este problema es el uso de fertilizantes de liberación controlada (FLC) y fertilizantes de liberación lenta (FLL). Estos sistemas pueden evitar que el agente activo se libere inmediatamente [30].

Algunos autores señalan que los fertilizantes de liberación controlada (FLC) son un tipo de fertilizantes diseñados de manera que los nutrientes se liberan de forma retardada en sincronía con las necesidades de las plantas. En los FLC, los factores que dominan la liberación de

nutrientes, como la velocidad, la duración de la liberación y el patrón, son controlables y bien conocidos durante su preparación [2]. Los FLC se dividen en tres principales grupos que a la vez se subdividen en otros grupos según sus características y comportamiento: 1) compuestos orgánicos de baja solubilidad, 2) fertilizantes en los que una barrera física controla la liberación y 3) compuestos inorgánicos de baja solubilidad [31].

Por otro lado, los fertilizantes de liberación lenta son los fertilizantes que se caracterizan por la liberación de nutrientes a un ritmo más lento, pero los factores como la tasa, el patrón y la duración de la liberación no están bien controlados y pueden verse fuertemente afectados por las condiciones de manipulación, como el almacenamiento, el transporte, la distribución en las condiciones del campo y del suelo, así como el contenido de humedad y la actividad biológica [32].

### **2.3.1 *KNO<sub>3</sub> como fertilizante***

El nitrato de potasio (KNO<sub>3</sub>) es una fuente soluble de dos importantes nutrientes vegetales esenciales. Se usa comúnmente como fertilizante para cultivos de alto valor que se benefician de la nutrición de nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) y una fuente de potasio (K<sup>+</sup>) libre de cloruros (Cl<sup>-</sup>). Sin embargo, la solubilidad relativamente alta de KNO<sub>3</sub> en condiciones cálidas permite una solución más concentrada que para otros fertilizantes de K comunes. Por lo tanto, los agricultores deben administrar el agua con cuidado para evitar que el nitrato se mueva por debajo de la zona de las raíces [33].

## **2.4 Materiales utilizados para la liberación lenta de agentes activos en la agricultura**

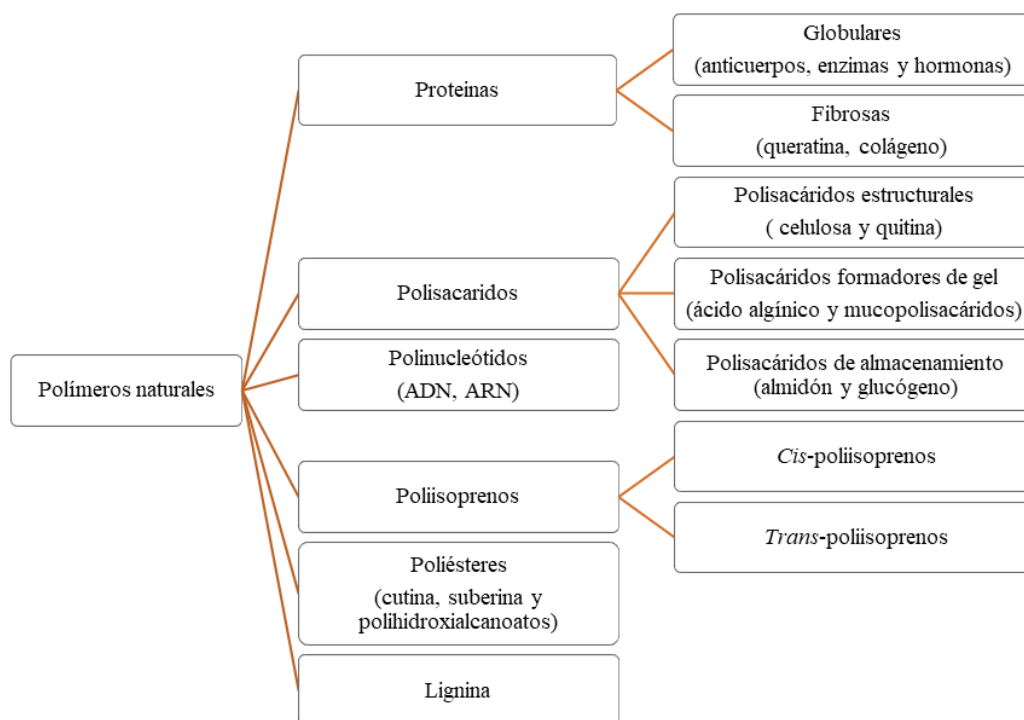
Los materiales encapsulantes utilizados para el desarrollo de sistemas de liberación lenta y controlada de agroquímicos deben cumplir con algunos requerimientos relacionados con la difusión, solubilidad, degradación y características de fabricación. Los polímeros de origen natural (biodegradables) más utilizados son polisacáridos como celulosa, almidón, quitosano, pectina, ciclodextrina, agarosa, dextrina, alginato y carragenano. Lo mismo ocurre con las proteínas como la gelatina y la albúmina. Los polímeros sintéticos (no biodegradables) comúnmente utilizados son poliestireno, poliamida, poliéster, poliacrilamida, acrilato de

polimetilo, polianhidro, poliuretano, resina amínica y policianoacrilato. Los materiales inorgánicos incluyen sílice, zeolitas, arcillas, óxidos inorgánicos y cerámica. [40].

### 2.4.1 Polímeros

Los polímeros son macromoléculas originadas a partir de reacciones repetitivas de moléculas más simples llamadas monómeros. Los polímeros se pueden clasificar según su origen en: naturales y sintéticos [34].

Generalmente los polímeros naturales se obtienen por extracción a partir de la biomasa, por síntesis química a partir de monómeros o bien, producidos por microorganismos [35]. La ventaja de utilizar polímeros naturales radica en su biodegradabilidad, fuente segura y que en muchas ocasiones son desechos o subproductos de la industria agrícola alimentaria, lo cual reduce su costo [36]. Los polímeros existentes en la naturaleza se pueden agrupar en seis clasificaciones principales con respecto a sus fuentes [37], esta clasificación se muestra en la Figura 2.2.

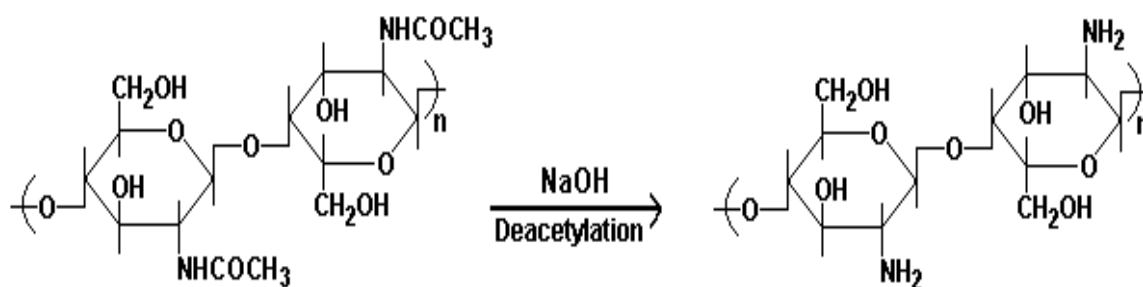


**Figura 2.2** Clasificación de los polímeros naturales según su fuente [37].

Los polímeros sintéticos son aquellos elaborados en la industria y se clasifican en: plásticos y fibras. [38]. Los plásticos se endurecen al enfriarse y éstos a su vez se subdividen en termoplásticos y plásticos termoestables [39].

#### 2.4.1.1 Quitosano

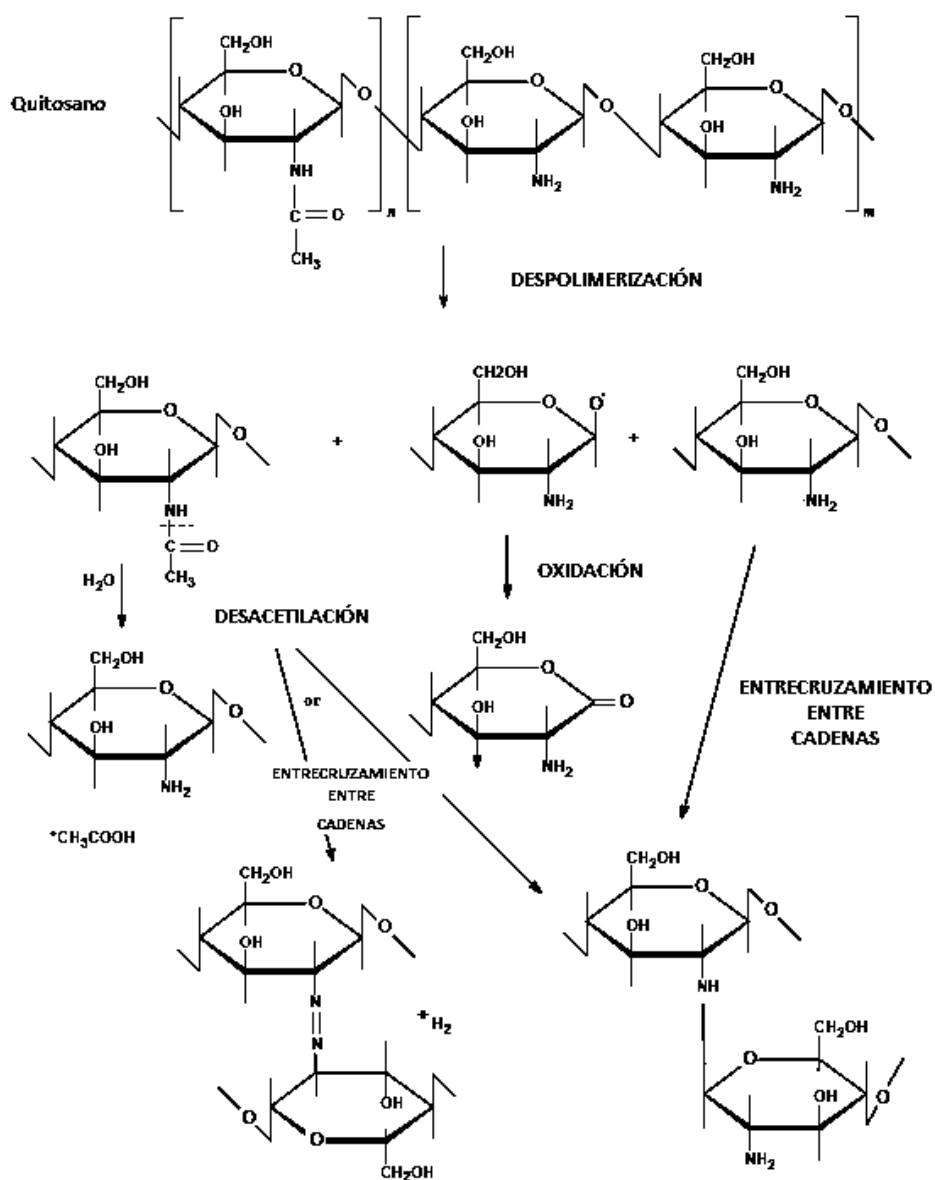
El quitosano (CS) es un polímero policatiónico que se obtiene a partir de la desacetilación de la quitina, proceso que se muestra en la Figura 2.3. La quitina es un polímero estructural de muchos organismos como crustáceos, insectos, moluscos, hongos, camarones, etc. [3]. El quitosano es más funcional, gracias a sus grupos amino que se extienden a lo largo de la cadena [41].



**Figura 2.3** Desacetilación de la quitina para obtener quitosano [41].

Las principales propiedades del quitosano incluyen no toxicidad, mucoadhesividad, es formador de películas, es excelente matriz de adsorción, antiviral, antibacteriano, antifúngico y antioxidante [42]. Además, forma enlaces de hidrógeno intermolecularmente, es insoluble en agua y disolventes orgánicos, pero es soluble en soluciones ácidas acuosas diluidas y presenta buena conductividad iónica, así mismo es un biopolímero catiónico con alta densidad de carga. El quitosano puede formar también hidrogeles, andamios, fibras y micropartículas o nanopartículas, debido a las superficies desacetiladas [5]. Es ampliamente utilizado en varios campos como en la agricultura donde tiene aplicaciones como matrices para encapsulación de fertilizantes y fungicidas, así como para recubrimiento de semillas y frutos [3].

Para la degradación del quitosano, el peso molecular, la polidispersidad, el grado de desacetilación, el nivel de pureza y el contenido de humedad juegan un papel crucial en la determinación del mecanismo y la velocidad de degradación. En la Figura 2.4 se muestran los posibles mecanismos de degradación del quitosano. Los productos de degradación del quitosano son compuestos no tóxicos, por lo que se considera seguro para aplicaciones en biomedicina y aplicaciones en la agricultura [43].

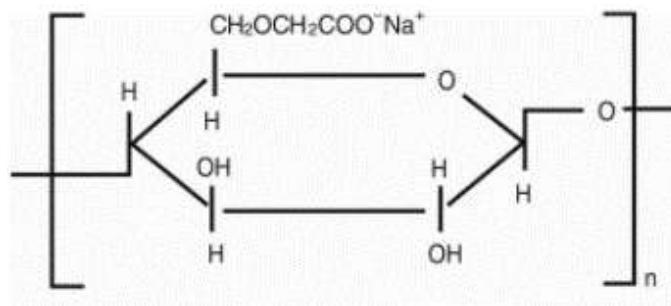


**Figura 2.4** Posibles mecanismos de degradación de la estructura del quitosano [43].

Independientemente del modo de degradación, el proceso generalmente comienza con la división aleatoria de los enlaces glucosídicos  $\beta$ -1,4 (despolimerización) seguida por el enlace N-acetilo (desacetilación). Como consecuencia, se observa una disminución del peso molecular medio y un aumento del grado de desacetilación. Simultáneamente con la escisión de la cadena de quitosano, se produce la escisión y/o destrucción de sus grupos funcionales (amino, carbonilo, amido e hidroxilo). Además, la despolimerización del quitosano puede dar lugar a la formación de radicales libres que inducen procesos de oxidación. Las fuertes interacciones intermoleculares entre los fragmentos formados de quitosano (entrecruzamiento entre cadenas) alteran la estructura del polímero, lo que conduce a la pérdida irreversible de sus propiedades fisicoquímicas [44].

#### 2.4.1.2 Carboximetilcelulosa

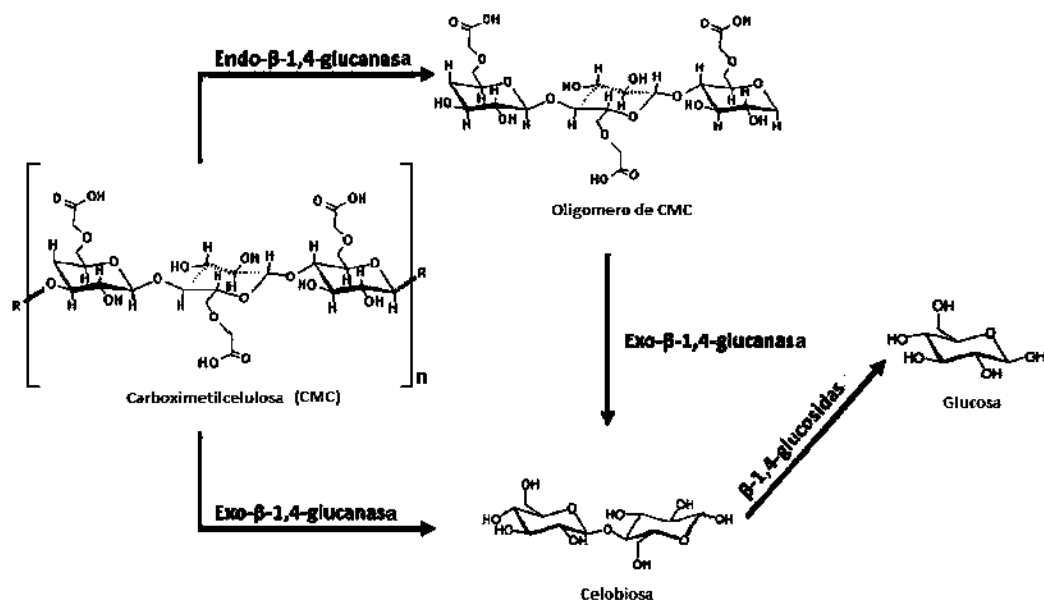
La carboximetilcelulosa (CMC) es un derivado de la celulosa con buena solubilidad en agua. Se obtiene de la reacción de sustitución de grupos hidroximetilo por grupos carboximetilo hidrófobos en las posiciones 2, 3 y 6. La CMC tiene una cadena de polímero lineal que contiene glicanos unidos a 1,4 y muestra el comportamiento de los polielectrolitos debido a grupos ácidos débiles en la estructura molecular. Tiene muchas aplicaciones como espesante, estabilizador de emulsión, sustituto de grasa en la carne, aglutinantes y propiedades de formación de películas. Además, en lo que respecta a la seguridad de la salud humana y el medio ambiente, la CMC es biocompatible, biodegradable y no tóxica [45]. Lo más común es encontrarla como carboximetilcelulosa sódica, molécula que se muestra en la Figura 2.5.



**Figura 2.5** Molécula de carboximetilcelulosa sódica [45].

La carboximetilcelulosa como polímero natural derivado de la celulosa, también puede sufrir degradación por diferentes mecanismos, sin embargo, en condiciones ambientales y en contacto con el suelo, el principal factor que interviene en su degradación es la acción de las enzimas. En la Figura 2.6 se presenta la ruta de biodegradación de la carboximetilcelulosa por acción enzimática. Los productos de degradación de la carboximetilcelulosa, al igual que los de quitosano, no son tóxicos por lo tanto este polímero también es adecuado para su uso en la agricultura.

La celulosa (y derivados relacionados como la CMC) se hidrolizan mediante tres enzimas diferentes: (i) endo- $\beta$ -1,4-glucanasa, (ii) exo- $\beta$ -1,4 glucanasa y (iii)  $\beta$ -1,4- glucosidasa. La endoglucanasa al azar hidroliza la columna vertebral del polímero, dando como resultado la formación de celobiosa, celotriosa y otros oligómeros. La exoglucanasa hidroliza los extremos de las cadenas del polímero oligómero, dando como resultado la formación de celobiosa, que luego puede ser hidrolizada por la  $\beta$ -1,4-glucosidasa para formar glucosa [46].

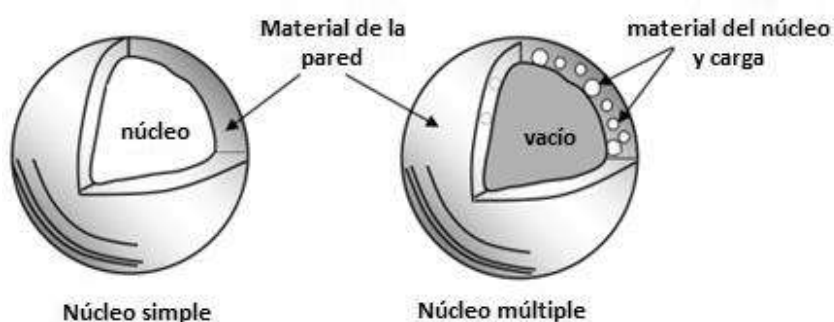


**Figura 2.6** Ruta de degradación enzimática de la carboximetilcelulosa [46].

## 2.5 Microesferas como sistemas de liberación lenta

Las partículas poliméricas esféricas pueden clasificarse de acuerdo a su tamaño en: macro- ( $> 5000 \mu\text{m}$ ); micro- ( $1.0$  a  $5000 \mu\text{m}$ ); y nano- ( $<1.0\mu\text{m}$ ) partículas [47]. A su vez, las

micropartículas pueden clasificarse en: 1) microcápsulas, que son sistemas vesiculares en los que el agente activo está confinado en una cavidad rodeada de una única membrana polimérica; y 2) microesferas que son sistemas matrices en los que el agente activo está disperso en la partícula [48], estas diferencias se ilustran en la Figura 2.7. Las microesferas son consideradas de gran interés para la industria farmacéutica, agronómica, cosmética y alimenticia ya que proporcionan un sistema de liberación lenta de un agente activo por tiempos prolongados.



**Figura 2.7** Micropartículas [48].

En el caso de las microesferas, la carga del agente activo puede realizarse al sumergir las microesferas sin carga en una solución que contenga el fármaco o agente activo que se requiere adicionar a las matrices poliméricas, posteriormente por acción de factores como la agitación, temperatura o el hinchamiento por el contacto con agua, el agente activo es absorbido por la matriz polimérica. Dependerá de la porosidad de la matriz o el grado de entrecruzamiento que presenten sus cadenas, la cantidad de agente activo que éstas sean capaces de aceptar.

### **2.5.1 Método de gelación iónica**

Diversos métodos han sido propuestos para la obtención de microesferas. Estos métodos pueden ser divididos en tres grupos: 1) procesos físicos que incluyen las técnicas de secado por aspersión, extrusión y recubrimiento por aspersión. 2) procesos fisicoquímicos como las técnicas de coacervación simple o compleja, atrapamiento en liposomas y gelificación iónica.

3) procesos químicos como polimerización interfacial e inclusión molecular [49]. El método de producción empleado depende principalmente del modo de acción necesario para la aplicación que se le dará al material, por ejemplo, la velocidad de liberación del ingrediente activo que depende del tamaño y la forma de las micropartículas [50].

El método de gelación iónica se basa en las interacciones iónicas entre polímeros de carga opuesta y en ocasiones un entrecruzante como el tripolifosfato (TPP) que tiene carácter policatiónico [5]. La combinación de dos polielectrolitos de carga opuesta da como resultado la formación de un hidrogel físico llamado hidrogel ionotrópico. Este hidrogel está unido por fuerzas iónicas, de hidrógeno o hidrofóbicas. Todas estas interacciones son reversibles y pueden verse alteradas por cambios en las condiciones físicas, como la fuerza iónica, el pH y la temperatura. [6]. Debido a las ventajas que representa el método de gelación iónica como el menor impacto ecológico durante el procesamiento y que la naturaleza de las interacciones iónicas de la matriz polimérica, permiten llevar a cabo una degradación adecuada en suelo, este método es una excelente alternativa para la producción de microesferas con aplicaciones en la agricultura en comparación con otros métodos convencionales.

Este método ha sido utilizado para obtener nanoesferas y microesferas para la liberación controlada y liberación lenta de agentes activos con aplicaciones biomédicas y en la agricultura. Sobre todo, ha sido ampliamente utilizado en sistemas basados en quitosano como polication.

### ***2.5.2 Mecanismos de liberación a través de matrices poliméricas biodegradables***

Se han propuesto cuatro tipos de liberación en fertilizantes: (1) difusión, (2) reacción química o degradación, (3) hinchamiento y (4) ósmosis. El fertilizante encapsulado en un polímero biodegradable en el que se difunde el agua hará que los nutrientes se vuelvan solubles. Después de eso, los microorganismos invaden la parte insoluble del fertilizante. Varios factores afectan la degradación de los polímeros biodegradables, como la morfología, la distribución del peso molecular y factores químicos y fisicoquímicos, como el pH, la temperatura y la resistencia mecánica. Los nutrientes se liberan de los polímeros biodegradables al hidrolizar las cadenas de polímeros en moléculas más pequeñas y no

tóxicas. La degradación del polímero puede ocurrir en volumen o en la superficie, lo que da como resultado la liberación de nutrientes en el sistema de suministro. La erosión se produce en la superficie de los gránulos recubiertos por hidrólisis microbiana o reacción enzimática. Sin embargo, en caso de erosión a gran escala, el efecto de hidrólisis provoca la absorción de agua y la subsiguiente degradación del polímero [51].

### 2.5.3 Solubilidad

De un ensayo *in vitro* de solubilidad se obtienen datos de la pérdida de peso que presentarán las matrices poliméricas al estar expuestas por un determinado tiempo al contacto directo con agua. Con los datos de peso inicial y final se calcula la fracción soluble en agua como:

$$\% \text{ fracción soluble} = \left( 1 - \frac{m_f}{m_o} \right) \times 100 \quad (2.1)$$

Donde  $m_f$  es el peso final de las microesferas secas y  $m_o$  es el peso inicial de las microesferas secas antes de la inmersión en agua.

### 2.5.4 Hinchamiento o Swelling

Conocer el grado de hinchamiento de las microesferas permitirá evaluar la cantidad máxima de fluido que puede incorporarse a la matriz polimérica, es decir, permitirá saber qué carga de fertilizante se le podrá incorporar a las matrices, tomando en cuenta que la carga de agente activo se da por absorción de una solución a través de las matrices.

El grado de hinchamiento porcentual para cada muestra a un tiempo determinado, se calcula con la siguiente ecuación:

$$\% SW = \frac{m_f - m_o}{m_o} \times 100 \quad (2.2)$$

Donde  $SW\%$  es el porcentaje de hinchamiento de las microesferas,  $m_f$  es el peso final de las microesferas secas y  $m_0$  es el peso inicial de las microesferas secas antes de la inmersión en agua.

Por otro lado, el grado de entrecruzamiento es uno de los factores más importantes que controlan el hinchamiento, el cambio dimensional y los patrones de liberación que pueden presentar las microesferas obtenidas por métodos que involucran el entrecruzamiento de cadenas poliméricas [52].

### ***2.5.5 Porcentaje de carga de agente activo en las microesferas***

Es importante determinar el porcentaje de peso que representa el agente activo en las microesferas con carga ya que, para aplicaciones en la industria agronómica, los fertilizantes de liberación lenta deben cumplir con el requerimiento de que mínimo el 60% de su peso corresponda al agente activo y máximo el 40% en peso debe corresponder a la matriz.

El porcentaje de carga se determina como se muestra en la Ecuación 2.3 donde  $m_f$  es el peso final de las microesferas secas con carga y  $m_0$  es el peso inicial de las microesferas secas.

$$\% C = \frac{m_{fc} - m_{0c}}{m_{0c}} \times 100 \quad (2.3)$$

Una mayor porosidad en las microesferas puede significar un mayor porcentaje de carga. Sin embargo, cuando las microesferas no tienen poros, un bajo grado de entrecruzamiento también puede significar un mayor porcentaje de carga.

### ***2.5.6 Factores que intervienen en la liberación de agentes activos en suelo***

Una vez agregados los agentes activos en el suelo, varios factores biológicos y fisicoquímicos pueden intervenir en la velocidad y en la tasa de liberación.

La actividad biológica/microbiana del suelo en sí misma depende de la naturaleza del suelo, su temperatura, humedad, pH y otras condiciones ambientales. El pH bajo del suelo puede retardar la liberación del agente activo debido a su efecto sobre los microbios del suelo [53]. En general, el mayor contenido de humedad en los suelos y las temperaturas más altas aumentan la actividad microbiana, lo que lleva al predominio de comunidades que tienen la capacidad de acceder o metabolizar las matrices poliméricas más fácilmente.

La textura del suelo por sí sola no influye en la liberación de fertilizantes de liberación lenta (FLL). Sin embargo, influye en la capacidad de retención de humedad del suelo y, en cierta medida, en la temperatura, lo que sí afecta la liberación de agentes activos. De acuerdo con el INEGI, en México existen 26 de los 32 grupos de suelo reconocidos por el Sistema Internacional Base Referencial Mundial del Recurso Suelo (IUSS) [54].

La temperatura ha sido uno de los factores que tanto en ensayos *in vitro* como *in vivo*, han demostrado tener importante efecto sobre la liberación de agentes activos de un FLL. Esto se debe a que la tasa de liberación de nutrientes aumenta con el aumento de la temperatura del suelo, lo que acorta la duración de la liberación [55].

La hidratación o nivel de humedad del suelo es otro de los factores que, si bien dependen de la temporada o de las necesidades de hidratación del cultivo y varía durante el año. Algunos polímeros presentan cierta solubilidad en agua y esto acelera la liberación de agente activo. Por otro lado, este factor también es importante para algunos mecanismos de liberación como el hinchamiento.

Se le llama índice de sal al contenido de aniones y cationes de un fertilizante. Los fertilizantes con un índice de sal más alto tienen una mayor capacidad de reducción de la presión del vapor de agua, por lo tanto, un FLL con un índice de sal más alto tendrá una tasa de absorción de agua más alta y una solubilización más rápida del núcleo de fertilizante sólido [56, 57].

## **2.6 Modelos cinéticos de liberación de agentes activos**

El ajuste a un modelo cinético de las curvas de perfil de liberación de un agente activo, ya sea de fármacos en la medicina o fertilizantes en la agronomía, proporciona información útil

sobre el posible mecanismo por el cual se libera el agente activo y sobre la cantidad que se libera en función del tiempo. La cinética de liberación puede verse afectada por las características propias del agente activo (cristalinidad, solubilidad, cantidad, etc.), así como por las características de la matriz (porosidad, capacidad de hinchamiento, solubilidad de los polímeros) [58].

### **2.6.1 Modelo de orden cero**

Describe un sistema en el que la tasa de liberación de nutrientes es independiente de su concentración tal como se muestra en la ecuación 2.4. Para este modelo se asume que el área es invariable

$$Q_t = Q_0 + K_0 t \quad (2.4)$$

Donde  $Q_t$  es la concentración de nutrientes liberados a un tiempo  $t$ ,  $Q_0$  es la concentración inicial de nutrientes a un tiempo cero y  $K_0$  es la constante de tasa de orden cero.

### **2.6.2 Modelo de Orden 1**

Este modelo sirve como referencia o punto de comparación para otros modelos de cinética de liberación y en éste se dice que la liberación de nutrientes es directamente proporcional a la concentración del nutriente en el fertilizante, es decir, cuanto mayor sea la concentración acumulada, más rápida será la liberación [53].

$$\ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t \quad (2.5)$$

Donde  $K_1$  es la constante de tasa de liberación de primer orden.

### **2.6.3 Modelo de Higuchi**

El modelo de Higuchi toma como mecanismo principal de liberación de nutrientes la difusión, mientras que la disolución y el hinchamiento de la matriz son despreciables;

tambi3n propone que la difusividad del agente activo es constante, y que, en el medio de disoluci3n, siempre se alcanzan condiciones perfectas de inmersi3n. Es ampliamente utilizado para describir la liberaci3n de agentes activos solubles y poco solubles en medios acuosos, desde diversas matrices semi-s3lidas de acuerdo a la ecuaci3n:

$$Q_t = K_H \sqrt{t} \quad (2.6)$$

Donde  $K_H$  es la constante de disoluci3n de Higuchi [59].

#### **2.6.4 Modelo de Hixon-Crowell**

El modelo de Hixon-Crowell, describe la liberaci3n de nutrientes de los sistemas donde hay un cambio en 3rea superficial y di3metro de part3culas y tabletas. Este modelo toma en cuenta que la liberaci3n de un agente activo desde una matriz ocurre por la erosi3n de 3sta. Este comportamiento puede describirse con la Ecuaci3n 2.7.

$$\sqrt[3]{Q_0} - \sqrt[3]{Q_t} = K_{HC} t \quad (2.7)$$

Donde  $K_{HC}$  es la constante de disoluci3n de Hixon-Crowell [53].

#### **2.6.5 Modelo de Korsmeyer-Peppas**

El modelo matem3tico de liberaci3n Korsmeyer-Peppas suele mostrar una muy buena correlaci3n de datos. Sin embargo, solo es aplicable al primer 60% de la liberaci3n total de agente activo ( $Q_t/Q_\infty < 0.6$ ) [53].

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = K_k t^n \quad (2.8)$$

Donde  $K_k$  es la constante de liberaci3n de Korsmeyer-Peppas,  $n$  es el indicador del mecanismo de liberaci3n de nutrientes y  $Q_\infty$  es la concentraci3n en el equilibrio de nutrientes a un tiempo  $t$  final.

En los casos donde el sistema de liberaci3n es un material poroso, la constante  $n$  puede tomar valores menores que 0.5, puesto que se combinan los mecanismos de difusi3n parcial a trav3s

de una matriz hinchada y a través de los poros llenos de agua [60]. Además, valores de  $n < 0.5$  denotan la existencia de otro proceso simultáneo al proceso de difusión. En el caso de  $n = 1$  la cinética del sistema de liberación es de orden cero y el proceso de liberación es controlado por la relajación de las cadenas poliméricas [61].

## **2.7 Discusión de estado del arte**

Se ha demostrado en varias investigaciones que la utilización de nuevas tecnologías como el empleo de matrices poliméricas biodegradables para la liberación sostenida de agentes activos, puede reducir la cantidad de agroquímicos necesarios para mantener un cultivo, y considerando los avances en este campo, se siguen abriendo posibilidades para solucionar los problemas y retos de la agricultura. Especialmente biopolímeros como la celulosa, la quitina, el quitosano, el colágeno, el alginato y el almidón han sido extensamente usados para estos propósitos.

La tecnología de los fertilizantes de liberación controlada y liberación lenta se comenzó a usar desde principios de este siglo, pero comenzó a ganar popularidad en la última década. Al principio los recubrimientos eran de poliamidas, compuestos de azufre, acrilamida, etc. Pero el empleo de polímeros biodegradables que también pueden ser extraídos de la naturaleza por métodos sencillos es ahora tendencia en la tecnología de los fertilizantes de liberación lenta (FLL).

En esta investigación la atención se centra en el quitosano (CS) y la carboximetilcelulosa (CMC) por ser polímeros de cargas opuestas que ofrecen la posibilidad de formar matrices poliméricas por métodos que no requieren el uso de solventes orgánicos, tal es el caso del método de gelación iónica, además de que, según investigaciones recientes, se ha demostrado que este método también ofrece un buen rendimiento de encapsulación.

En 2021 Uyanga y Daoud [62] obtuvieron compósitos de quitosano/carboximetilcelulosa mezclando soluciones 0.5% m/v de los polímeros (proporción 1:1) en agitación constante. Se agregaron 10 ml de la solución de quitosano/carboximetilcelulosa en viales diferentes y se agregaron 5 ml al 0.3% de diferentes agentes entrecruzantes a cada vial (ácido cítrico, ácido fumárico, ácido tartárico y iones de zinc). Las soluciones finales se vertieron en un molde y se dejaron reposar durante la noche a temperatura ambiente para eliminar el gas

atrapado. Luego, los compósitos se colocaron en el horno de vacío a 60 °C y se dejaron secar hasta obtener masa constante. En este estudio se concluyó que cuanto menor es la cantidad de grupos funcionales hidrofílicos activos presentes en un agente de reticulación, más densos son los enlaces cruzados, más sustancial la fuerza de unión y más resistente el hidrogel al calor y al agua. También se propuso un posible mecanismo de reacción entre las estructuras moleculares de los reticulantes y los polímeros, donde se plantea que el grupo carboxílico de la carboximetilcelulosa se combina con el grupo amina del quitosano para formar enlaces amida y moléculas de agua.

Aunque el quitosano ha sido utilizado para formar matrices para liberación controlada de fármacos desde hace décadas, su empleo en el área agronómica es más reciente [63]. En 2011, Silva y col. [64] desarrollaron un sistema de liberación controlada basado en nanopartículas como portadores del herbicida paraquat que se prepararon a partir de alginato/quitosano en un procedimiento de dos pasos. Se colocaron en relación estequiométrica alginato y quitosano para la pregelación utilizando cloruro de calcio como reticulante. El pH de las soluciones de alginato y quitosano se estableció inicialmente en 4.9 y 4.6 para proporcionar una dispersión coloidal y las nanopartículas se mantuvieron con agitación adicional durante 30 minutos para mejorar el curado. Las nanopartículas mostraron un diámetro medio de 197-305 nm, un índice de polidispersidad de 0.518 que indicó que las nanopartículas no tienen homogeneidad y una eficiencia de encapsulación del 74% que fue el resultado de la interacción entre las partículas del paraquat cargadas positivamente y el alginato negativamente cargado, a la vez las nanopartículas fueron obtenidas por la interacción de las cargas opuestas del alginato (polianión) y el quitosano (policación).

Grillo y col. [65] en 2014 prepararon nanopartículas de quitosano/tripolifosfato (TPP) como sistema portador del paraquat utilizando el método de gelación iónica. La solución de quitosano fue preparada con agitación magnética constante a un pH de 4.7, posteriormente esta solución fue mezclada con una solución al 0.1% de TPP con agitación magnética constante para obtener las nanopartículas. El paraquat fue incorporado a las nanopartículas a colocarlas en 12 ml de éste. Se encontró que el herbicida encapsulado era tan eficaz como en su forma convencional, pero con un perfil de liberación más lento. Las nanopartículas mostraron un tamaño promedio de 390 nm sin carga y 420 nm con carga, y se observó una

eficiencia de encapsulación del 62% lo que indica una buena afinidad entre los componentes. Esta interacción es el resultado de fuerzas electrostáticas entre el paraquat y el TPP, lo que favorece la captura del principio activo por la red reticulada del quitosano y el TPP.

En 2015, Rodrigues dos Santos y col. [66] realizaron la encapsulación de  $\text{KNO}_3$  por el método de coagulación formando microesferas por goteo de una solución quitosano/arcilla en una solución de hidróxido de sodio por 16 h a agitación mecánica constante. El  $\text{KNO}_3$  fue cargado en las microesferas por inmersión en una solución del fertilizante durante 24 horas a temperatura ambiente. Se obtuvo una eficiencia de encapsulación del 40-65% que se atribuye a la compatibilidad de la arcilla con el quitosano que pudo ser observada por SEM. En esta investigación el mayor beneficio fue la liberación controlada exitosa de nitrato de potasio por 60 días.

Rodrigues Maruyama y col. [67] obtuvieron en 2016 matrices poliméricas por el método de gelación iónica, con una mezcla quitosano/alginato/TPP preparando una solución al 0.2% de quitosano en ácido acético al 0.6% que se mantuvo en agitación durante 12 h. Después, la solución se diluyó hasta quitosano al 0.1% en ácido acético al 0.3% y se añadió el herbicida. Las soluciones anteriores se agregaron gota a gota a la solución de quitosano 6 ml de una solución de TPP al 0.1% (a pH 4.5) y la mezcla se agitó durante 12 h. Se obtuvieron diámetros promedio de 377 nm y se mostró un porcentaje de encapsulación de 58-70% que podría explicarse por las fuerzas intermoleculares como las interacciones y enlaces de hidrógeno (debido a la presencia de grupos electronegativos) con los componentes de las nanopartículas, especialmente las cadenas poliméricas de quitosano. También se observó toxicidad y genotoxicidad reducidas.

En 2017, Deshpande y col. [68] fabricaron microesferas de quitosano para la liberación sostenida de  $\text{ZnSO}_4$ , emplearon el método de gelación iónica y el estudio fue diseñado para analizar el efecto de diferentes concentraciones de quitosano, TPP y  $\text{ZnSO}_4$  sobre la eficiencia de la complejación y el tamaño de las nanopartículas variando la concentración de cada reactivo mientras que los otros dos se mantuvieron constantes. Se obtuvieron nanopartículas con un menor porcentaje de encapsulación (10-40%), lo que se atribuye a que la mezcla para la matriz se realizó solamente con quitosano y TPP, sin embargo, los diámetros promedio de estas partículas rondaron entre los 250-300 nm. Se determinó que, a menores

concentraciones de quitosano, se obtienen partículas de menor tamaño, el bajo porcentaje de quitosano también afectó la complejación con el  $\text{ZnSO}_4$ , reduciendo la eficiencia de encapsulación.

Roy y col. [69] lograron encapsular agentes activos para la industria textil en microcápsulas de quitosano/carboximetilcelulosa utilizando glutaraldehído como reticulante por el método de emulsión-evaporación variando el pH al que se realizó la síntesis, las porciones de polímeros y la porción de reticulante utilizado. Las microcápsulas sintetizadas mostraron una eficiencia de encapsulación de entre el 49-93% también se encontró que, las interacciones polímero-polímero eran más fuertes a pH 6.0 que a pH 4.0 y, en consecuencia, la estructura era más compacta en el medio acuoso. Adicionalmente se observó que el rendimiento de encapsulación disminuyó al aumentar la cantidad de glutaraldehído utilizado en el proceso de entrecruzamiento lo que podría atribuirse a la interacción covalente entre el quitosano y el glutaraldehído al afectar el enlace entre el quitosano y la CMC.

En 2018, França y col. [70] realizaron un trabajo donde se encapsuló  $\text{KNO}_3$  por el método de secado por aspersión usando una mezcla de quitosano/arcilla de montmorillonita de sodio/quitosano/TPP para formar la matriz polimérica, obteniendo un buen porcentaje de encapsulación (> 92%) que se atribuye a las interacciones del fertilizante con los componentes del sistema, además el sistema mostró un mecanismo de hinchamiento controlado para liberar el fertilizante en el suelo.

Quadrado y Fajardo [71] obtuvieron micropartículas empleadas para el transporte de fármacos. Las micropartículas se prepararon mediante complejación de polielectrolitos entre carboximetil almidón (CMS) y CS. La solución de CS se vertió gota a gota en una solución de CMS que contenía TPP utilizada como reticulante auxiliar de CS y se mantuvo bajo agitación suave (50 rpm) y pH 5 durante 1 h temperatura ambiente para la maduración. Se obtuvieron como resultado micropartículas  $\leq 900 \mu\text{m}$ , una los resultados obtenidos por SEM donde se compararon micropartículas de quitosano/carboximetil almidón con y sin reticulante, sugieren que el uso de TPP como reticulante tiene un impacto en la morfología y disminución del tamaño de las partículas, la eficiencia de encapsulamiento fue de 60-67%, que se atribuye a la complejación de los polielectrolitos con el fármaco, adicionalmente se encontró que las condiciones de pH cercanas al punto isoeléctrico del fármaco favorecieron

la interacción electrostática entre los aniones del fármaco y los grupos funcionales con carga positiva del quitosano.

En 2019, Rashidipour y col. [72] realizaron una investigación donde la formulación de la matriz polimérica constaba de quitosano/pectina/TPP y se usó para encapsular paraquat. El método de preparación de las nanopartículas se basó en la técnica de gelación iónica: se preparó una solución de quitosano (0.04% en ácido acético al 0.2%) a pH 4.7 con agitación magnética durante 12 h. También se preparó una solución acuosa de TPP (0.01%). la solución de TPP (5 ml) se añadió a 20 ml de la solución de quitosano gota a gota con agitación magnética y la solución se agitó durante otros 10 min. Luego se agregaron 2 ml de la solución de pectina (0.08%) a la solución de quitosano/TPP con agitación. Se obtuvo una eficiencia de encapsulación de  $89.41 \pm 5.70$  % indica una mejor afinidad entre los componentes en comparación con las nanopartículas anteriores que contienen paraquat basadas en CS/TPP con un 62% de encapsulación. Se cree que la afinidad entre los componentes es el resultado de fuerzas electrostáticas, al final del estudio se observó que la aplicación de estas esferas redujo la toxicidad al tener que agregar una menor cantidad a los cultivos.

En el trabajo que realizaron Sánchez-Andica y col. en 2020 [73], se encapsuló carbofurano (CAB) en matrices de quitosano por el método de gelación iónica, disolviendo una masa específica de CAB en una mezcla de 500 mg de etanol y 1000 mg de propilenglicol. Se añadieron cinco gramos de solución de quitosano (2.0% de quitosano ajustado a pH 4.0) para producir una suspensión homogénea. A continuación, se añadieron gota a gota 5.0 g de solución de agente reticulante TPP al 6.0% durante un máximo de 5 min con agitación constante. Este estudio dio como resultado una eficiencia de encapsulamiento de 45-55%. Los resultados también mostraron que la media de eficiencia de encapsulación tendía a disminuir a medida que aumentaba el pH. El aumento del pH provoca la disminución de grupos amino disponibles para el entrecruzamiento, produciendo una estructura de partícula menos compacta.

También en 2020, dos Santos-Pereira y col. [74] obtuvieron microesferas para liberación controlada de  $\text{KNO}_3$  utilizando el método de inversión de fase. Emplearon quitosano en solución con concentración del 4% en peso. Después, se añadió el bagazo de caña de azúcar a la solución en diferentes proporciones de 10, 25 y 50% en peso; y posteriormente, se

homogeneizó a 12,000 rpm durante 40 min. Las microesferas formadas por goteo se lavaron y filtraron con agua desionizada hasta alcanzar un pH neutro. El nitrato de potasio se incorporó a las microesferas por el proceso de sorción. Se realizaron ensayos de liberación del agente activo donde se demostró que el  $\text{KNO}_3$  en su forma convencional es fácilmente soluble y alcanza el 100% del contenido liberado inmediatamente cuando entra en contacto con el agua. Sin embargo, el porcentaje de liberación disminuye hasta 66% cuando el  $\text{KNO}_3$  estaba en una matriz de quitosano/bagazo de caña.

Ma y col. [75] sintetizaron microesferas de quitosano/carboximetilcelulosa cargadas con un aceite esencial. Se gotearon soluciones de diferentes concentraciones de citral en soluciones al 2% m/v de quitosano con calentamiento y agitación magnética hasta formar una emulsión estable. A continuación, se prepararon soluciones de CMC con concentraciones de 0.25%, 0.5% y 1% m/v y se ajustó el pH a 14. Finalmente se goteó la emulsión citral/quitosano en las diferentes soluciones de carboximetilcelulosa a 60 rpm hasta formar microesferas. Las microesferas se sometieron a varios lavados con agua y etanol anhidro para eliminar el citral residual de la superficie. Las microesferas presentaron una estructura similar a una red de intercambio, la cual está formada por la complejación de CS y CMC. Esta estructura les dio a las microesferas una cierta resistencia mecánica. Además, esta estructura fue adecuada para encapsular efectivamente citral y facilitar su difusión. Los perfiles de liberación mostraron que entre los días 0 y 3 la liberación fue relativamente lenta, la pendiente aumentó a los 4 días, lo que indica la cantidad máxima de liberación a los 4 días. Luego, la curva se volvió gradualmente menos pronunciada, lo que indica que las microesferas tenían el máximo liberación sostenida de citral a los 3-4 días.

En estos trabajos un factor común son las técnicas de caracterización y pruebas realizadas a las diferentes formulaciones de nanopartículas y microesferas a base de quitosano. Por FTIR se ha encontrado que las bandas asociadas al quitosano permanecen inalteradas en los espectros de los sistemas combinados con otros polímeros y entrecruzantes. Por XRD se ha observado el tipo de estructura resultante de las diferentes mezclas de los polímeros naturales, así como la cristalinidad que presentan, una evidente disminución en el grado de cristalinidad puede ser atribuida a un mayor grado de entrecruzamiento de las cadenas poliméricas que se traduce en menor espacio entre cadenas para la carga de agente activo. Con las técnicas de

TGA/DSC se han evaluado las diferentes etapas de pérdida de masa de las matrices poliméricas, así como la presencia de masa residual. La caracterización por SEM es vital para la confirmación de la morfología y diámetros que presentan las matrices poliméricas. Adicionalmente, estos trabajos también coinciden en que el tipo y proporción de entrecruzante y el pH pueden afectar la eficiencia de encapsulamiento [76], en el caso del pH afectará el grado de ionización del quitosano, lo que puede influir en la interacción electrostática que sea capaz de formar con otros polímeros o con el agente activo que se desee cargar, por otro lado, se demostró que el método de síntesis utilizado también puede afectar el tamaño de partícula y que la agitación durante la síntesis ayuda a generar más altos grados de entrecruzamiento por el periodo más prolongado al que se exponen los polímeros en las soluciones reticulantes.

No ha habido reportes previos donde se haya utilizado quitosano y carboximetilcelulosa para la síntesis de microesferas por el método de gelación iónica con aplicación en liberación lenta de agroquímicos.

### 3 DESARROLLO EXPERIMENTAL

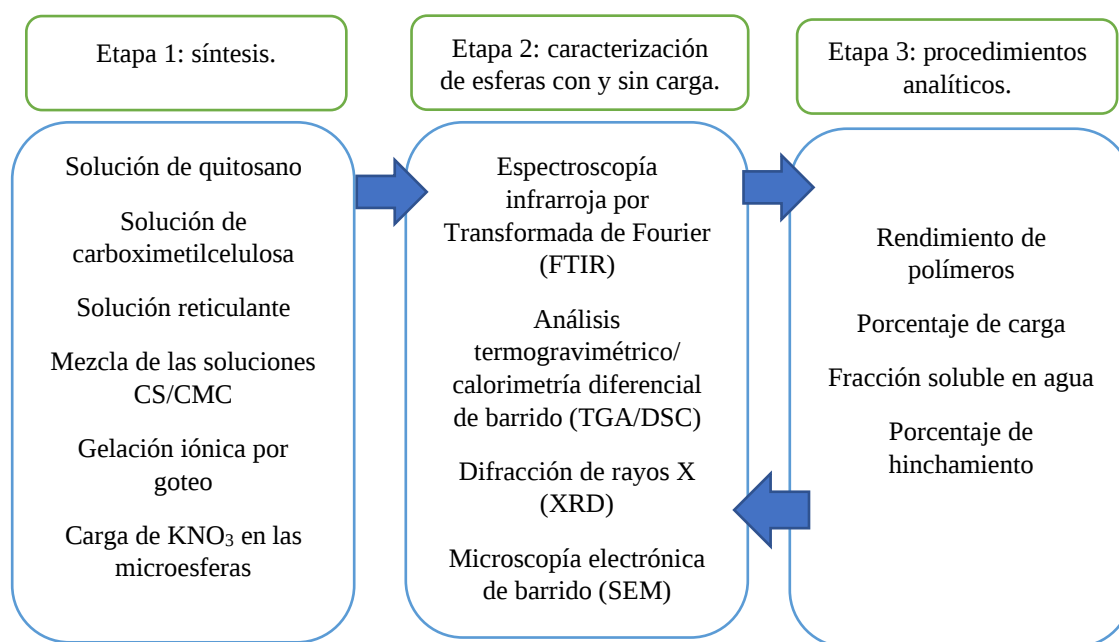
En este capítulo se describen los materiales y métodos empleados para el desarrollo experimental de este trabajo. Se detalla el método utilizado para la obtención de las microesferas, así como el procedimiento para la carga del agente activo. También se describen las técnicas de caracterización y procedimientos analíticos que se realizaron para evaluar las características de las microesferas con y sin carga.

#### 3.1 Materiales de estudio

Los materiales empleados para la obtención de matrices poliméricas fueron: quitosano en polvo de bajo peso molecular,  $\geq 75\%$  de desacetilación (Sigma); tripolifosfato de sodio en polvo, 85% de pureza (Sigma-Aldrich); carboximetilcelulosa, viscosidad media (Sigma-Aldrich); ácido acético glacial (J.T. Baker); cloruro de potasio 99% de pureza (Meyer). El agente activo agregado a las microesferas fue nitrato de potasio grado agrícola (Golden Bell).

#### 3.2 Desarrollo experimental

En la Figura 3.1 se muestra un diagrama de bloques con las tres etapas que se siguió en esta investigación.



**Figura 3.1** Diagrama de bloques del desarrollo experimental.

Se seleccionó el método de gelación iónica para la obtención de las microesferas debido a las ventajas que representa, como no emplear solventes orgánicos y su bajo costo. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente.

El diseño de experimental realizado corresponde a la presencia de dos factores; composición y tiempo de entrecruzamiento. Las diferentes muestras se obtuvieron como se muestra en la Tabla 3.1, donde (CS) se refiere al porcentaje e masa de quitosano y (CMC) al porcentaje en masa de carboximetilcelulosa.

**Tabla 3.1** Composición de las matrices poliméricas y tiempo de entrecruzamiento.

| Nomenclatura | Composición (% m/m) |     | Tiempo de entrecruzamiento (h) |
|--------------|---------------------|-----|--------------------------------|
|              | CS                  | CMC |                                |
| CS-2         | 100                 | 0   | 2                              |
| CS-4         | 100                 | 0   | 4                              |
| CS8/CMC2-2   | 80                  | 20  | 2                              |
| CS8/CMC2-4   | 80                  | 20  | 4                              |
| CS7/CMC3-2   | 70                  | 30  | 2                              |
| CS7/CMC3-4   | 70                  | 30  | 4                              |
| CS6/CMC4-2   | 60                  | 40  | 2                              |
| CS6/CMC4-4   | 60                  | 40  | 4                              |
| CS5/CMC5-2   | 50                  | 50  | 2                              |
| CS5/CMC5-4   | 50                  | 50  | 4                              |

### 3.3 Técnicas experimentales

#### 3.3.1 Matrices poliméricas

Las matrices poliméricas se obtuvieron por el método de gelación iónica con modificaciones al método descrito por Pérez y col. [63]. Las soluciones de los polímeros y el TPP se prepararon por separado. La solución en porcentaje masa/volumen de quitosano al 3% m/v se obtuvo agregando el polímero en polvo a una solución acuosa de ácido acético 1% v/v

(porcentaje en volumen) bajo agitación mecánica a temperatura de 40 °C. Posteriormente, se preparó una solución al 3% m/v de carboximetilcelulosa en agua destilada con agitación magnética constante.

Se preparó la solución de TPP disolviéndolo en agua destilada hasta obtener una concentración de 1% m/v (pH 8.6). Finalmente, las matrices poliméricas se generaron empleando una técnica de goteo utilizando una jeringa 31G (0.25 mm de diámetro) para la solución de CS sobre la solución entrecruzante de TPP/CMC adicionando los volúmenes de soluciones requeridos para obtener las composiciones de la Tabla 3.1. La formación de esferas se llevó a cabo con agitación magnética de 300 rpm y a temperatura ambiente. como se muestra en la Figura. 3.2.



**Figura 3.2** Esquema del sistema de goteo.

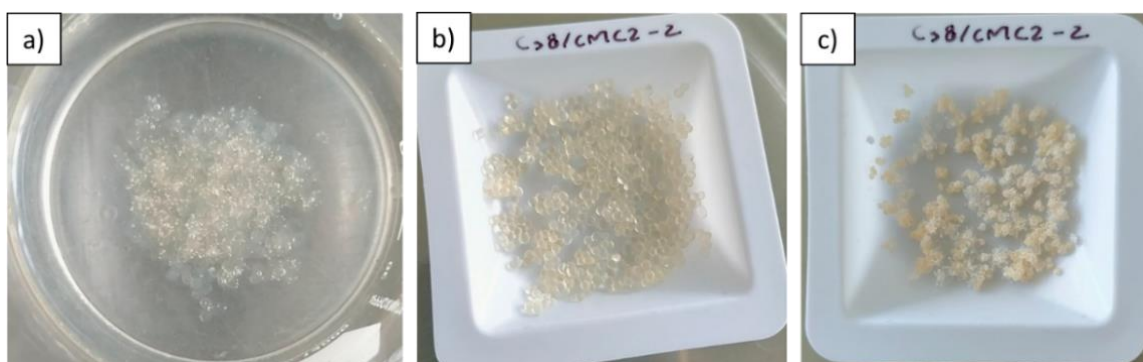
Una vez obtenidas las matrices, se retiró el exceso de agua y se secaron en un horno *Thermo scientific – Lindberg Blue M* a 40°C hasta alcanzar peso constante. Luego, se lavaron con abundante agua destilada con la finalidad de eliminar residuos de TPP. Posterior al lavado, las microesferas se sometieron a un segundo ciclo de secado hasta obtener peso constante.

Basado en la caracterización de las microesferas sin carga, se descartaron las muestras CS-2 y CS-4, por presentar morfología colapsada y el más bajo nivel de hinchamiento en agua respecto al resto de las muestras.

La carga del agente activo se realizó colocando las microesferas previamente lavadas y secadas en una solución de 20 g KNO<sub>3</sub>/100 g H<sub>2</sub>O por 5 horas (Figura 3.3), tomando en cuenta que la solubilidad de KNO<sub>3</sub> a 25°C es de 38 g KNO<sub>3</sub>/100 g H<sub>2</sub>O. Por último, las matrices ya cargadas fueron secadas a 40°C hasta obtener masa constante. Las esferas con carga se nombraron según se muestra en la Tabla 3.2.

**Tabla 3.2** Nomenclatura de las microesferas con carga.

| Nomenclatura | Composición (% m/m) |     | Tiempo de entrecruzado (h) |
|--------------|---------------------|-----|----------------------------|
|              | CS                  | CMC |                            |
| CS8-2C       | 80                  | 20  | 2                          |
| CS8-4C       | 80                  | 20  | 4                          |
| CS7-2C       | 70                  | 30  | 2                          |
| CS7-4C       | 70                  | 30  | 4                          |
| CS6-2C       | 60                  | 40  | 2                          |
| CS6-4C       | 60                  | 40  | 4                          |
| CS5-2C       | 50                  | 50  | 2                          |
| CS5-4C       | 50                  | 50  | 4                          |



**Figura 3.3** Microesferas a) inmersas en solución de KNO<sub>3</sub>, b) filtradas, c) secas.

### **3.3.2 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)**

Los grupos funcionales presentes en las muestras y las posibles interacciones entre éstos, se analizaron por medio de un espectrofotómetro *Tensor27 Bruker*. Cada espectro se obtuvo con 20 barridos entre 500 y 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

### **3.3.3 Difracción de rayos X (XRD)**

Se analizaron los polímeros en polvo y el  $\text{KNO}_3$ , así como las microesferas con y sin carga para observar cómo se modificaba la amorficidad de las muestras como resultado de las interacciones iónicas. Las mediciones se realizaron en un difractómetro de rayos X *D8 Advance Bruker* con geometría de Bragg-Brentano y radiación  $\text{CuK}_\alpha$  en un rango de  $2\theta$  de 10 a  $60^\circ\text{C}$  usando un paso de 2 a un tiempo de 0.6 s por paso y con una potencia de 40 Kv/ 40 mA.

### **3.3.4 Análisis termogravimétrico/calorimetría diferencial de barrido (TGA/DSC)**

El comportamiento térmico de las microesferas se determinó mediante un módulo de análisis térmico simultáneo *TGA/DSC SDT Q600 TA Instruments* usando un crisol de alúmina y atmósfera inerte de argón. Se realizó un pretratamiento a todas las muestras (4 a 6 mg de muestra) con un calentamiento desde  $25^\circ\text{C}$  hasta  $120^\circ\text{C}$  permaneciendo en esta temperatura 30 minutos, para después enfriar la muestra hasta temperatura ambiente. Subsecuente al pretratamiento y sin retirar la muestra del equipo, se realizó el análisis térmico simultáneo partiendo de una temperatura de  $25^\circ\text{C}$  hasta  $800^\circ\text{C}$ , con una rampa de calentamiento de  $20^\circ\text{C}/\text{min}$ .

### **3.3.5 Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

El tamaño y morfología de las microesferas con y sin carga se caracterizó por medio del microscopio electrónico de barrido *JEOL JSM-6400F* a un voltaje de aceleración de 15 kV.

Las imágenes obtenidas fueron procesadas utilizando el software *Nano Measurer 1.2* para obtener datos estadísticos sobre los tamaños promedio de las microesferas. Se tomaron 100 mediciones por cada muestra.

### **3.3.6 Ensayos de liberación de agente activo en agua.**

Se colocó la cantidad necesaria de microesferas cargadas en 100 ml de agua desionizada para obtener una concentración final de 0.001 M. Los cambios de concentración creados en la solución debido a la liberación y solubilización de  $\text{KNO}_3$ , se obtuvieron a partir de mediciones de conductividad eléctrica (en  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ). Se utilizó un medidor de sobremesa *HANNA Instruments H2550* con una sonda de conductividad *HI76310*.

La concentración acumulada de  $\text{KNO}_3$  en función del tiempo se cuantificó utilizando una recta de calibración con soluciones de  $\text{KNO}_3$  con concentraciones de 0.1, 0.05, 0.01, 0.005, 0.001, 0.0005, 0.0001 y 0.00005 M. a tiempos de 2, 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150 min, 6, 12 y 14 horas.

También se registraron los cambios de conductividad producidos por la solubilización de una cantidad conocida de  $\text{KNO}_3$  en su forma convencional colocados en 100 ml de agua desionizada para tener un punto de comparación entre el fertilizante convencional y las microesferas con carga.

## **3.4 Procedimientos analíticos**

### **3.4.1 Rendimiento de producción de microesferas**

El rendimiento de producción de microesferas se calculó como se indica en la Ecuación 3.1, donde se toma en cuenta el peso final de las microesferas secas sin carga y la suma del peso de los polímeros utilizados como precursores en cada solución.

$$\% \text{ rendimiento de polímeros} = \frac{W_{MS}}{W_{CS} + W_{CMC}} \times 100 \quad (3.1)$$

Donde  $W_{MS}$  es el peso de las microesferas sin carga secas,  $W_{CS}$  es el peso del quitosano agregado en solución y  $W_{CMC}$  es el peso de carboximetilcelulosa agregado en la solución entrecruzante. Las proporciones y, por lo tanto, los pesos de cada polímero agregados en cada muestra variaron según se muestra en la Tabla 3.2.

### 3.4.2 Fracción soluble en agua

Este ensayo se realizó con la finalidad de comprobar si la pérdida de peso de las microesferas a un tiempo de 5 horas no representaría daños significativos en la matriz, ya que este periodo de tiempo se utilizó para realizar la carga por inmersión en una solución de  $KNO_3$ . Autores como Tomaz y col. [77] indicaron que un sistema similar de quitosano entrecruzado iónicamente se estabiliza en un periodo de 96 h.

Las microesferas secas se sumergieron en 100 ml de agua destilada por 5 horas sin agitación a temperatura ambiente. El material hidratado fue filtrado y llevado a secado en un horno *Thermo Scientific –Lindberg Blue M* a 40°C hasta obtener masa constante. La fracción soluble en agua se calculó como la relación entre la masa solubilizada a consecuencia de la inmersión en agua ( $m_f$ ) y la masa inicial de las microesferas secas ( $m_o$ ), tal como se muestra en la Ecuación (2.1).

$$\% \text{ fracción soluble} = \left(1 - \frac{m_f}{m_o}\right) \times 100 \quad (2.1)$$

### 3.4.3 Porcentaje de hinchamiento

Las microesferas sin carga se colocaron en agua destilada a temperatura ambiente durante un periodo de 5 horas. Posteriormente se filtraron y secaron a 40°C por 48 h en un horno *Thermo Scientific –Lindberg Blue M*. Los ensayos se realizaron por triplicado para obtener el porcentaje de hinchamiento promedio.

El grado de hinchamiento porcentual (% *SW*) en los diferentes tiempos de inmersión ( $t$ ) se calcularon como se indica en la Ecuación (2.2).

$$\% SW = \frac{m_f - m_0}{m_0} \times 100 \quad (2.2)$$

Los ensayos de porcentaje de hinchamiento se realizaron para obtener una aproximación de la cantidad de agente activo que las microesferas serían capaces de aceptar. Las microesferas que presentaron menor porcentaje de hinchamiento se descartaron.

El fenómeno de hinchamiento y la solubilización de las microesferas ocurren a la par, por lo que la magnitud de hinchamiento calculada podría verse afectada por aproximadamente  $\leq 7\%$  de masa perdida por solubilización.

#### **3.4.4 Porcentaje de carga**

Una vez sintetizadas las microesferas, se calculó el porcentaje que representaba la carga del agente activo en el peso final de las microesferas con carga. Éste se calculó como se muestra en la Ecuación 2.3.

$$\% C = \frac{m_f - m_0}{m_0} \times 100 \quad (2.3)$$

Donde  $m_f$  es la masa total de las microesferas cargadas y secas y  $m_0$  es la masa de las microesferas secas y sin carga.

## 4 RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos de las técnicas de caracterización y procedimientos analíticos empleados, así como su respectiva discusión. Dicho procesamiento se efectuó tanto para las microesferas sin carga como para las microesferas con carga y los materiales a partir de los cuales éstas se obtuvieron.

### 4.1. Caracterización de microesferas sin carga

#### 4.1.1. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

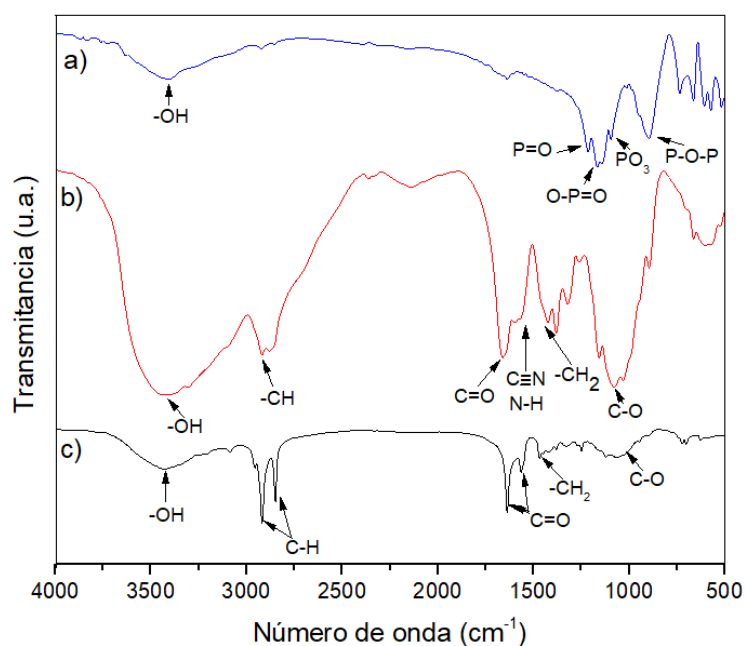
Con la finalidad de conocer los principales grupos funcionales presentes en las microesferas sin carga, se realizó el análisis de espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). En la Figura 4.1 se muestran los espectros correspondientes a los biopolímeros utilizados para la obtención de las microesferas, así como del tripolifosfato de sodio que fue utilizado como polianión para promover la interacción electrostática en el método de gelación iónica.

El tripolifosfato de sodio (TPP), identificado como espectro a), muestra una banda ancha y poco prominente a  $3417\text{ cm}^{-1}$  debida al posible contenido de humedad en la muestra. Se observan también bandas características de las vibraciones por estiramientos simétricos y antisimétricos de los grupos  $\text{P=O}$  a  $1217\text{ cm}^{-1}$ . Así mismo, a  $1095\text{ cm}^{-1}$  se identificó la presencia de una banda correspondiente a vibraciones de estiramiento simétrico y antisimétrico en el grupo  $\text{PO}_3$ . Finalmente, se observó una banda a  $891\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al estiramiento antisimétrico del puente  $\text{P-O-P}$ , Tomaz y col. [77] reportaron las mismas bandas a números de onda similares.

En el espectro correspondiente al quitosano (b), se identificaron grupos funcionales característicos de este polímero como el  $\text{-OH}$  presente a  $3423\text{ cm}^{-1}$ . La banda presente a  $2920\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a estiramientos simétricos y asimétricos de los grupos  $\text{-CH}$  presentes en los anillos de  $\beta\text{-(1-4)}$  D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina que conforman las moléculas de quitosano. La señal presente a  $1660\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a la presencia de grupos

C=O. Posteriormente, a  $1571\text{ cm}^{-1}$  se encontró una banda correspondiente a señales superpuestas de la flexión en conjunto de los grupos N-H y  $\text{C}\equiv\text{N}$ . La banda encontrada a  $1427\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la deformación axial de grupos  $-\text{CH}_2$ . La banda presente a  $1321\text{ cm}^{-1}$  evidencia la presencia de grupos  $-\text{C}-\text{N}$ . A  $1070\text{ cm}^{-1}$  se localizó la presencia de grupos C-O. Finalmente la presencia de grupos C-O-C debidos a los enlaces glucosídicos de esta molécula se ubicó por la presencia de señales a  $1026, 896$  y  $664\text{ cm}^{-1}$  [66].

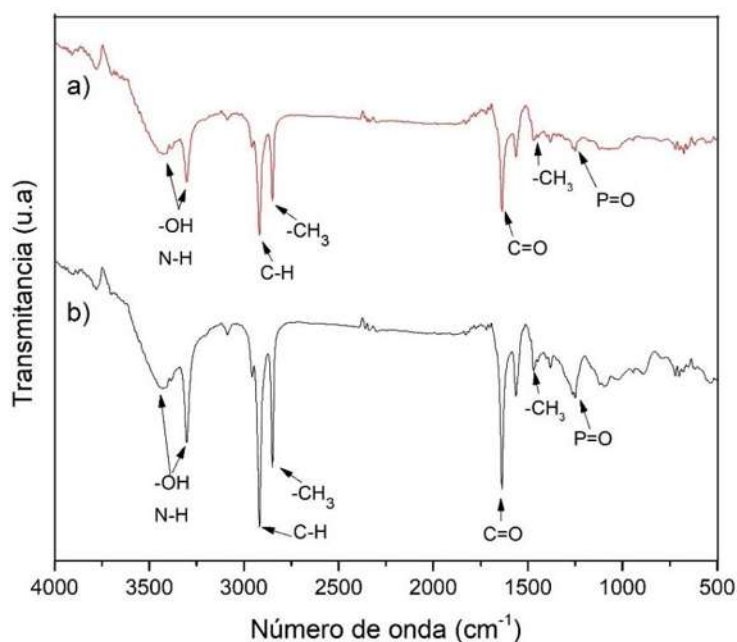
En el espectro c) se identificaron los principales grupos funcionales característicos de la carboximetilcelulosa (CMC). A  $3429\text{ cm}^{-1}$  se identificó una banda correspondiente al estiramiento de grupos  $-\text{OH}$ . Las bandas presentes a  $2918$  y  $2848\text{ cm}^{-1}$  se relacionan con estiramientos antisimétricos de C-H. Se observó la presencia de bandas a  $1637$  y  $1562\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a vibraciones por tensión de grupos C=O. La banda presente a  $1463\text{ cm}^{-1}$  confirma la presencia de grupos  $-\text{CH}_2$ . También se observó la presencia de una banda a  $1062\text{ cm}^{-1}$  relacionada con el estiramiento de grupos de grupos C-O [69].



**Figura 4.1** FTIR de a) tripolifosfato de sodio (TPP), b) quitosano (CS) y c) carboximetilcelulosa (CMC).

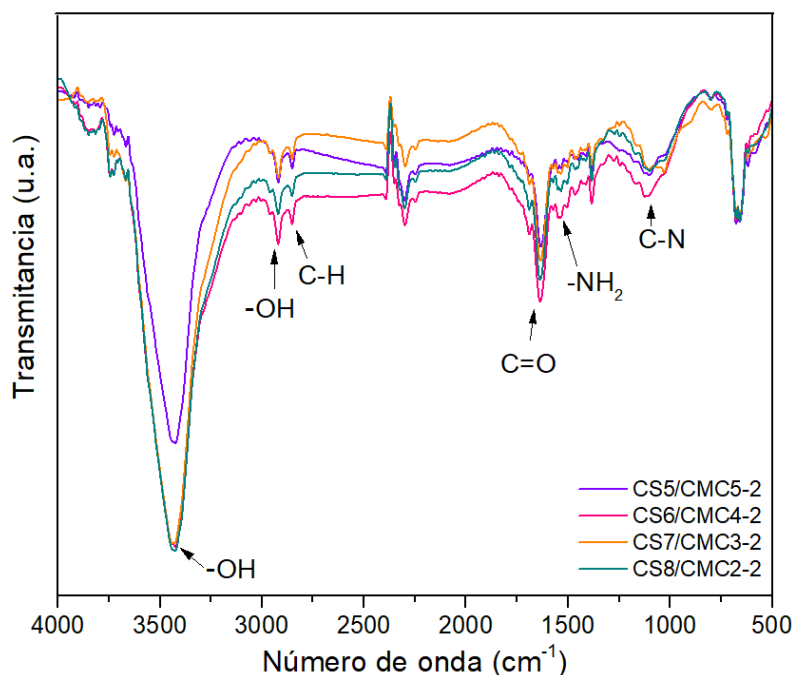
En la Figura 4.2 donde se muestra el análisis por FTIR de las microesferas obtenidas a partir de quitosano/TPP, se identificó la presencia de grupos  $-\text{OH}$  a  $3427\text{ cm}^{-1}$  y N-H a  $3302\text{ cm}^{-1}$ ,

ambos grupos funcionales también fueron identificados en la Figura 4.1 c), correspondiente al quitosano puro. Sin embargo, en los espectros a) y b) de la Figura 4.2 la intensidad de las bandas correspondientes a los grupos -OH es mayor que la observada en los espectros correspondientes al quitosano puro debido a las interacciones formadas por la diferencia de cargas de los iones del quitosano y el tripolifosfato. Por otro lado, la presencia de esta banda sufre un ligero desplazamiento hacia la izquierda para la muestra CS-4 que se obtuvo a un mayor tiempo de entrecruzamiento. También fueron identificados grupos funcionales en común en los espectros a) y b). Se encontraron grupos C-H correspondientes a vibraciones por estiramiento a  $2918\text{ cm}^{-1}$  la presencia de esta banda presentó mayor intensidad para la muestra CS-2. La presencia de grupos C=O a  $1637\text{ cm}^{-1}$  fue identificada por las estrechas e intensas bandas. Se identificó el grupo -CH<sub>3</sub> a  $1463\text{ cm}^{-1}$  desplazada ligeramente hacia la izquierda para la muestra CS-4. Se evidenció la presencia de CH<sub>2</sub> a  $1380\text{ cm}^{-1}$ . Finalmente, se constató la presencia de grupos funcionales P=O a  $1249\text{ cm}^{-1}$  lo que indica que el TPP está presente en la muestra debido a las interacciones electrostáticas generadas con el quitosano debido al método de gelación iónica.

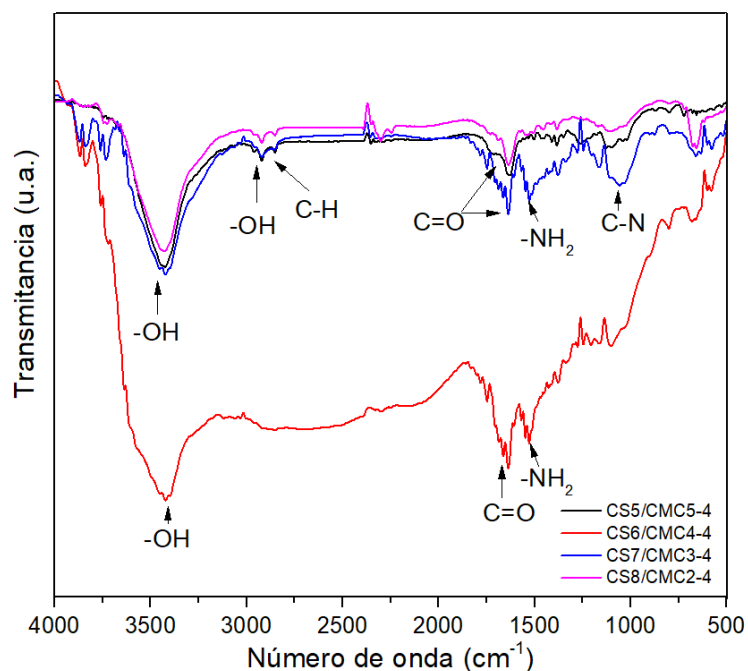


**Figura 4.2** FTIR de las microesferas de quitosano obtenidas a diferentes tiempos a) a 4 horas (CS-4) y b) a 2 horas (CS-2).

La comparación del análisis de las muestras obtenidas a partir de las mezclas con diferentes proporciones de CS/CMC se presentan en las Figuras 4.3 y 4.4. Los espectros de las muestras CS8/CMC2-2, CS8/CMC2-4, CS7/CMC3-2, CS7/CMC3-4, CS6/CMC4-2, CS6/CMC4-4 CS5/CMC5-2 y CS5/CMC5-4 mostraron semejanzas al presentar bandas a los mismos números de onda. A  $3435\text{ cm}^{-1}$  se encontró que la banda con intensidad fuerte y anchura amplia corresponde a la flexión de grupos -OH. Respecto a los espectros de los polímeros puros y los de las microesferas obtenidas a partir de quitosano, se observó que el ancho de las bandas correspondientes a los grupos -OH de las microesferas obtenidas a partir de mezclas disminuyó, lo que indica una disminución en las interacciones intermoleculares [78]. Posteriormente, se apreciaron bandas con intensidad débil a  $2922\text{ cm}^{-1}$  y  $2848\text{ cm}^{-1}$  corresponden a grupos -OH enlazados intramolecularmente y al estiramiento de grupos -CH respectivamente. Así mismo, se identificó la presencia de una banda bien definida a  $1637\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a grupos C=O. Finalmente a  $1382\text{ cm}^{-1}$  se determinó la presencia de una banda atribuida a movimientos de flexión de grupos -CH. Se detectó una banda atribuida a deformación de grupos -NH<sub>2</sub> a  $1529\text{ cm}^{-1}$  y la presencia de amidas primarias (unión C-N) a  $1027\text{ cm}^{-1}$ , relacionadas a una mayor densidad de entrecruzamiento iónico [70].

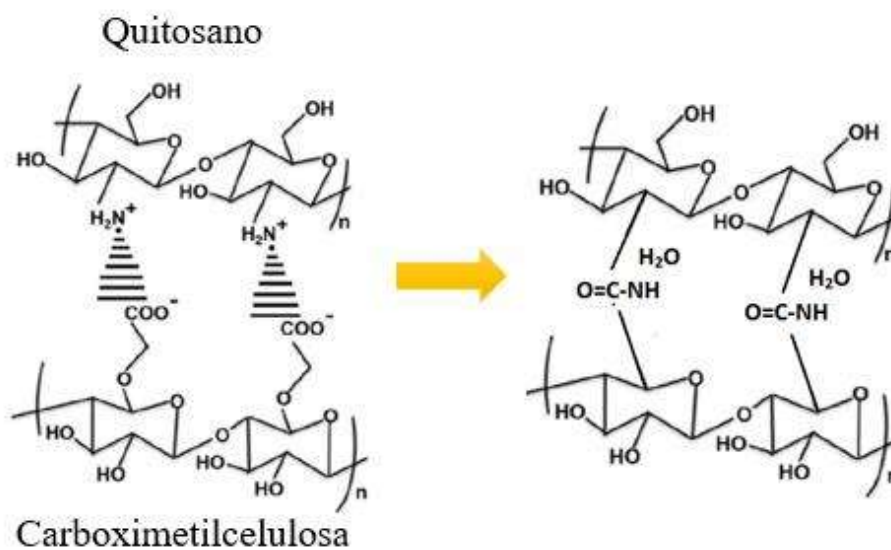


**Figura 4.3** FTIR de las microesferas sin carga obtenidas a 2 h de entrecruzamiento.



**Figura 4.4** FTIR de las microesferas sin carga obtenidas a 4 h de entrecruzamiento.

En la Figura 4.5 se muestra el producto de la complejación de los polímeros utilizados creada por la interacción iónica, donde el grupo carboxílico de la CMC se combina con el grupo amina del CS para formar enlaces amida y moléculas de agua. Estas interacciones son responsables también del entrecruzamiento en las microesferas.



**Figura 4.5** Formación de enlaces amida entre el CS y CMC.

Por otro lado, el análisis mostró que el espectro del experimento etiquetado como CS6/CMC4-4 si bien no tuvo grandes diferencias en cuanto a los grupos funcionales identificados en la muestra, las intensidades de transmitancia si mostraron diferencias notables respecto al resto de las muestras, la banda correspondiente a estiramiento de grupos -OH se notó desplazada a  $3419\text{ cm}^{-1}$  y con una gran intensidad, se identificó también la presencia de grupos funcionales  $\text{-NH}_2$  y  $\text{C=O}$  a  $1532\text{ cm}^{-1}$  y  $1662\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Las diferencias de intensidad de transmitancia de esta muestra respecto al resto, podrían atribuirse a que al producirse enlaces de hidrógeno, el número y la fuerza de las interacciones intermoleculares varían mucho dentro de la muestra, lo que provoca que las bandas sean particularmente amplias. [79].

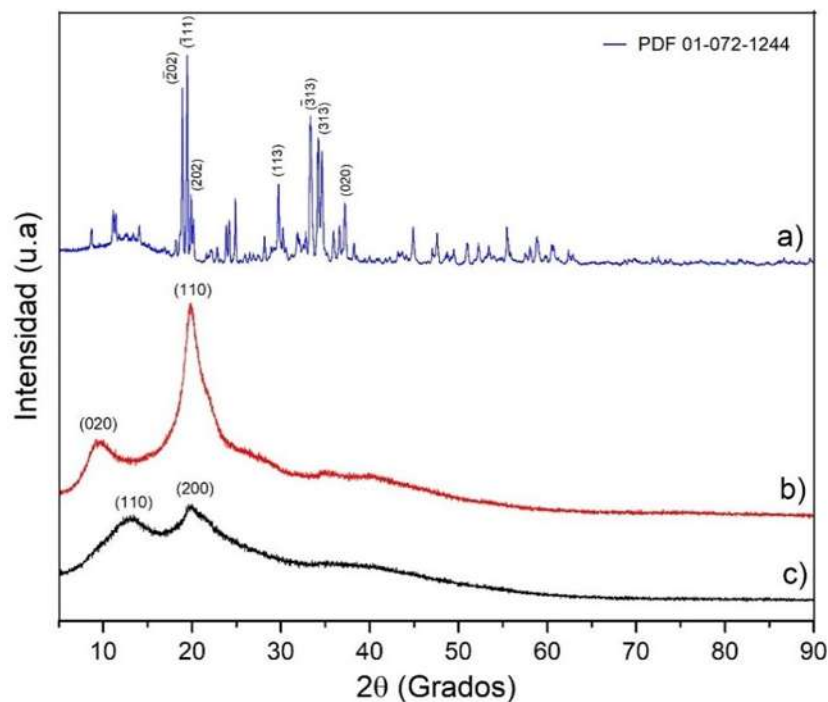
#### **4.1.2. Difracción de rayos X (XRD)**

Este análisis se utilizó para determinar la amorficidad de las muestras obtenidas, así como la cristalinidad de los materiales utilizados para su síntesis.

En la Figura 4.6 se muestran los patrones de difracción de los polímeros puros y el tripolifosfato utilizados para la obtención de las microesferas. En el patrón de difracción a) se muestran picos estrechos a  $18.91^\circ$ ,  $19.49^\circ$ ,  $19.91^\circ$ ,  $29.77^\circ$ ,  $33.31^\circ$ ,  $34.21^\circ$ ,  $34.66^\circ$  y  $37.22^\circ$ , los cuales son característicos del TPP, dichos picos coinciden con la tarjeta PDF 01-072-1244.

El patrón de difracción b) correspondiente al quitosano puro mostró dos picos principales a  $2\theta = 13.26^\circ$  y  $20.02^\circ$  que pueden ser atribuidos a reflexiones 100 (cristal 1) y 002 (cristal 2) [63, 66].

Debido a las reacciones efectuadas para obtener la carboximetilcelulosa se produce la ruptura de los enlaces de hidrógeno originalmente presentes en la celulosa, reduciendo el grado de cristalinidad de la CMC [79]. En el patrón de difracción c) de la Figura 4.6 que corresponde a la carboximetilcelulosa, se identificó la presencia de dos picos a  $2\theta = 9.45^\circ$  y  $19.87^\circ$ , estos picos son menos intensos y de base ancha, lo que comprueba que la CMC es un polímero semicristalino.

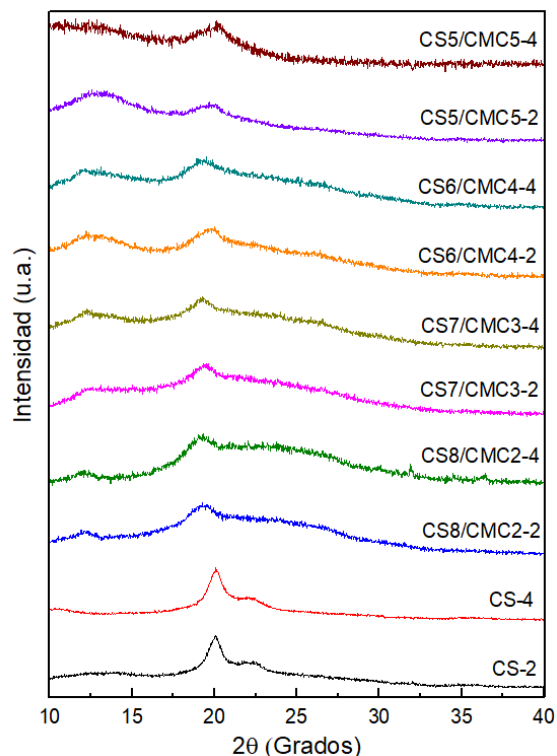


**Figura 4.6** Difractogramas de rayos X de a) tripolifosfato de sodio (TPP), b) quitosano puro (CS) y c) carboximetilcelulosa (CMC).

En la Figura 4.7 se muestran los difractogramas de las microesferas obtenidas con las diferentes composiciones. Es posible observar que la intensidad de los picos característicos de los polímeros empleados para obtener las microesferas disminuye, lo que puede ser atribuido a un menor grado de cristalinidad en las muestras.

Una menor intensidad en los picos también puede atribuirse a una mayor densidad de entrecruzamiento lo que dificulta el reordenamiento de las cadenas de quitosano, este mayor grado de entrecruzamiento se debe a la interacción de los polianiones presentes en los grupos  $\text{COO}^-$  de la carboximetilcelulosa con los grupos  $\text{NH}_3^+$  del quitosano.

Las microesferas etiquetadas como CS8/CMC2-2, CS8/CMC2-4, CS5/CMC5-2 y CS5/CMC5-4 fueron las muestras que presentaron menor intensidad en sus picos, adicionalmente se observó que las microesferas obtenidas a partir de quitosano puro a los diferentes tiempos de entrecruzamiento (CS-2 y CS-4) presentaron picos más intensos y definidos.



**Figura 4.7** Difractogramas de rayos X de las microesferas sin carga.

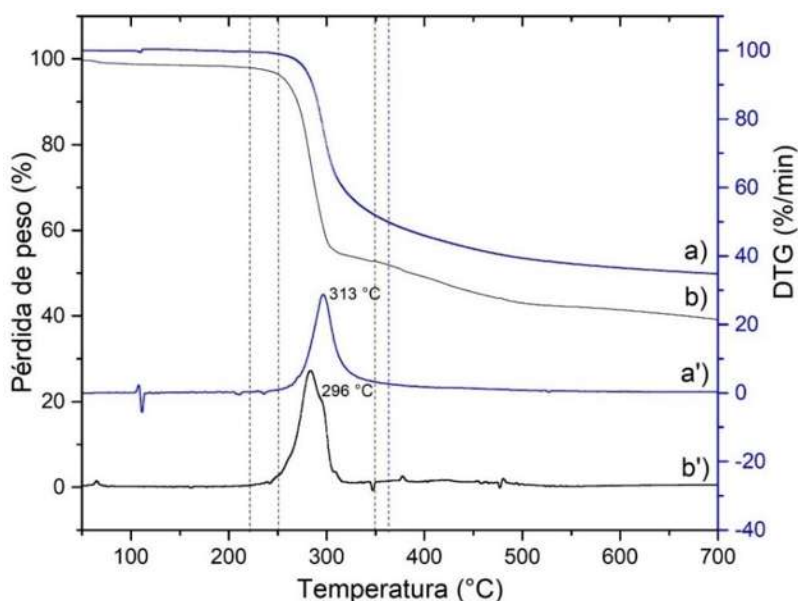
Por otro lado, como pudo constatarse por medio de los análisis FTIR, no se encontraron grupos funcionales característicos del TPP en las microesferas obtenidas a partir de la mezcla de polímeros CS/CMC/TPP, por lo que se descartó su presencia en la mayoría de las muestras. Aunque el TPP no forma parte del producto final (microesferas), si tiene un rol importante como estabilizador en la solución reticulante.

Contrario a lo que han reportado otros autores, donde la cristalinidad aumenta debido a que la proporción de TPP no es suficiente para anular las cargas de  $\text{NH}_3^+$  creando zonas con repulsión electrostática, las microesferas obtenidas con el sistema CS/CMC mostraron una alta amorficidad respecto a aquellas obtenidas a partir de quitosano puro, debida a la alta densidad de entrecruzamiento producido por las interacciones electrostáticas entre los grupos funcionales de cargas opuestas presentes en los polímeros. Cuanto mayor sea el entrecruzamiento de las microesferas, mejor será el control de la liberación del agente activo de las matrices amorfas, ya que a medida que aumenta la amorfización, también aumenta la

capacidad de hinchamiento de las membranas debido al tiempo de relajación más rápido de las cadenas poliméricas, lo que a su vez aumenta la tasa de liberación de agente activo.

#### 4.1.3 *Análisis termogravimétrico/calorimetría diferencial de barrido (TGA/DSC)*

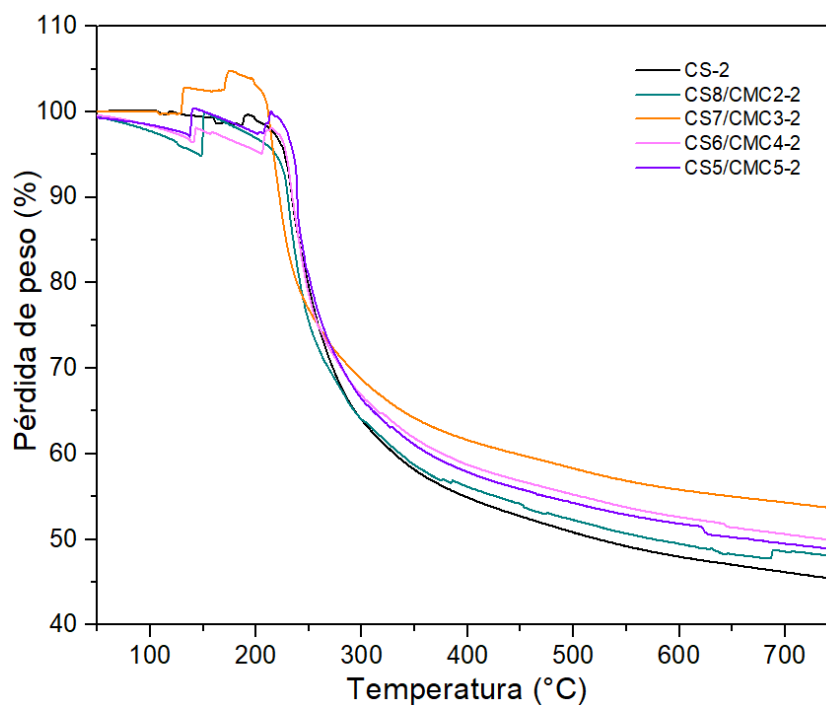
Las curvas de TGA/DTG presentadas en la Figura 4.8 correspondientes al análisis de los polímeros puros utilizados para obtener las microesferas muestran las diferentes etapas de pérdida de peso de las muestras. Para el quitosano (a) se aprecia una zona de pérdida de peso importante entre los 250 y 364 °C. En esta etapa la muestra perdió el 51% de su peso. Por medio de las curvas DTG se observó que el quitosano se degradó a una temperatura máxima de 313 °C. y esta pérdida de peso se atribuye a degradación del quitosano, este proceso por lo general comienza con la división aleatoria de los enlaces glucosídicos  $\beta$ -1,4 (despolimerización) seguida por el enlace N-acetilo (desacetilación). Simultáneamente con la escisión de la cadena de quitosano, se produce la destrucción de sus grupos funcionales (amino, carbonilo, amida e hidroxilo) y la degradación de estos grupos funcionales produce la liberación de gases como  $\text{CO}_2$  y  $\text{NO}_2$ . Además, la despolimerización del quitosano puede dar lugar a la formación de radicales libres que inducen procesos de oxidación [43].



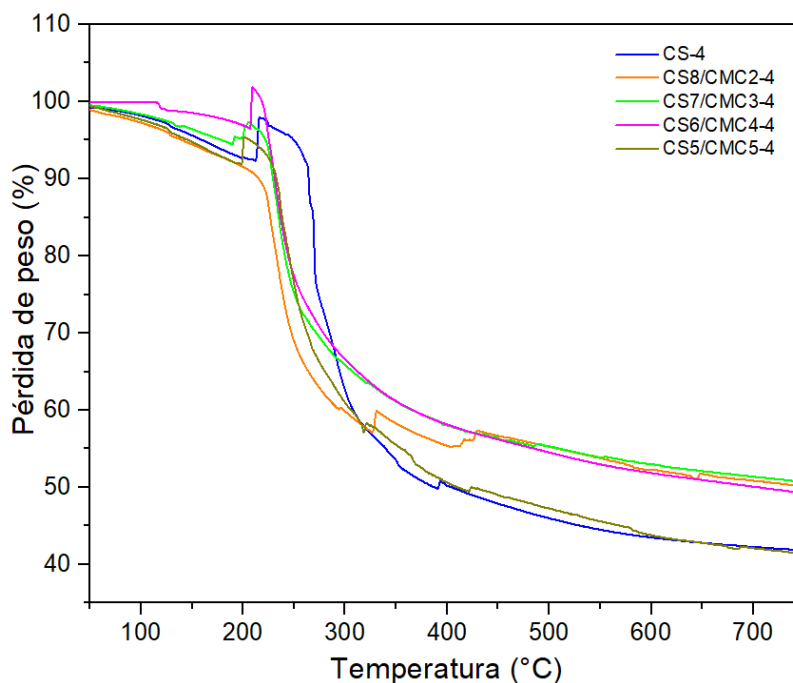
**Figura 4.8** Curvas TGA/DTG de a) quitosano (CS) y b) carboximetilcelulosa (CMC).

La curva correspondiente a la CMC (b) presentó una primera etapa de pérdida de peso entre los 50 °C y 110 °C atribuida a la pérdida de humedad en la muestra. La pérdida de peso más significativa se registró entre los 198°C y 364 °C, ésta se relaciona con la descarboxilación y pérdida de gases generados por la pirólisis de la carboximetilcelulosa; principalmente H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CO, CH<sub>4</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> y vapor de agua [80, 81]. Por DTG se determinó que la principal pérdida de peso de la carboximetilcelulosa ocurrió a una temperatura máxima de 296 °C.

En las Figuras 4.9 y 4.10 se muestran los diagramas termoanalíticos de las microesferas sin carga. En la mayoría de las muestras se presentan variaciones de ganancia de masa atribuidas a alteraciones en la sensibilidad del equipo, debidas al movimiento violento del crisol tras la liberación de agua ligada químicamente en las muestras, por FTIR se confirmó la presencia de grupos -OH en la región de 3550 – 3200 cm<sup>-1</sup> que indican la presencia de agua ligada químicamente.



**Figura 4.9** Diagrama termoanalítico de las microesferas sin carga obtenidas a 2 h.



**Figura 4.10** Diagrama termoanalítico de las microesferas sin carga obtenidas a 4 h.

A pesar del pretratamiento que se dio a las muestras calentando hasta 120°C antes de realizar el ciclo completo para el análisis de comportamiento térmico, solo la muestra CS-2 que fue obtenida a partir de quitosano y TPP, no presentó el comportamiento anteriormente descrito.

En el primer intervalo de descomposición se registraron cambios de pérdida de masa entre el 1% al 6% del peso original de la muestra que se atribuyen a pérdidas de humedad hasta los 120°C y a pérdidas de agua ligada químicamente desde los 120°C hasta los 180 – 200 °C cuando comienza la despolimerización. Además de la pérdida de peso por humedad, se identificó una sola etapa de pérdida de peso atribuida a la despolimerización.

Se observó que el porcentaje de masa remanente a 750 °C fue mayor para las muestras obtenidas a 2 horas de entrecruzamiento, excepto para las muestras de proporciones CS8/CMC2, por lo que se cree que un tiempo más prolongado de entrecruzamiento podría afectar la estabilidad térmica de las microesferas.

En la Tabla 4.1 se muestran las diferentes etapas de descomposición térmica y el porcentaje de masa remanente para cada muestra, así como la temperatura máxima de descomposición de las muestras que fue observada por DTG.

**Tabla 4.1** Etapas de descomposición térmica de las microesferas sin carga.

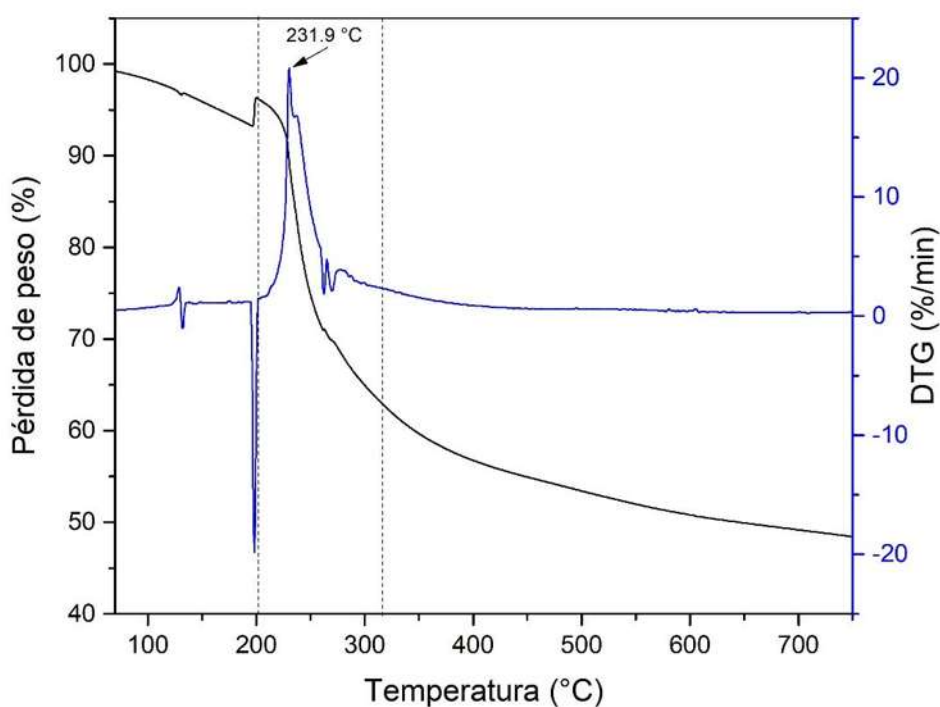
| <b>Muestra</b>    | <b>Temperatura de máxima velocidad de descomposición (°C)</b> | <b>Principal pérdida de peso</b> |                      | <b>% de masa remanente a 750°C</b> |
|-------------------|---------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------|------------------------------------|
|                   |                                                               | Intervalo de T(°C)               | % de pérdida de masa |                                    |
| <b>CS</b>         | 313                                                           | 250-364                          | 51.37                | 38.37                              |
| <b>CMC</b>        | 296                                                           | 198-364                          | 47.16                | 34.19                              |
| <b>CS-2</b>       | 246.9                                                         | 210-237                          | 42.66                | 45.2                               |
| <b>CS-4</b>       | 272.8                                                         | 226-335                          | 41.52                | 41.7                               |
| <b>CS8/CMC2-2</b> | 231.9                                                         | 206-314                          | 33.20                | 47.9                               |
| <b>CS8/CMC2-4</b> | 230.7                                                         | 198-293                          | 33.25                | 50.1                               |
| <b>CS7/CMC3-2</b> | 232.8                                                         | 197-328                          | 37.39                | 53.6                               |
| <b>CS7/CMC3-4</b> | 231.3                                                         | 206-293                          | 30.16                | 50.6                               |
| <b>CS6/CMC4-2</b> | 233.5                                                         | 208-330                          | 34.55                | 49.8                               |
| <b>CS6/CMC4-4</b> | 236.7                                                         | 219-337                          | 36.62                | 49.2                               |
| <b>CS5/CMC5-2</b> | 239.5                                                         | 206-347                          | 37.24                | 48.8                               |
| <b>CS5/CMC5-4</b> | 238.7                                                         | 203-303                          | 34.57                | 41.6                               |

Así mismo, se observó que las muestras obtenidas a partir de CS/TPP presentaron un porcentaje mayor de pérdida de peso entre los 210-335 °C.

Los picos de máxima pérdida de peso observados por DTG demostraron que las muestras obtenidas a partir de CS/TPP y aquellas obtenidas a partir de la mezcla de polímeros CS/CMC, presentan menor estabilidad térmica respecto a los polímeros puros. Esto es atribuido a la interacción iónica entre los grupos carboxílicos de la CMC y los grupos amino del CS que influyen negativamente a la fuerza de enlace [81]. La pérdida de peso en este intervalo se atribuye a la descomposición de los polímeros por los mecanismos antes descritos. La descomposición comienza por la ruptura aleatoria de las cadenas principales y

la destrucción de los grupos funcionales sustituidos en los anillos principales, el producto de esta descomposición es la liberación de gases.

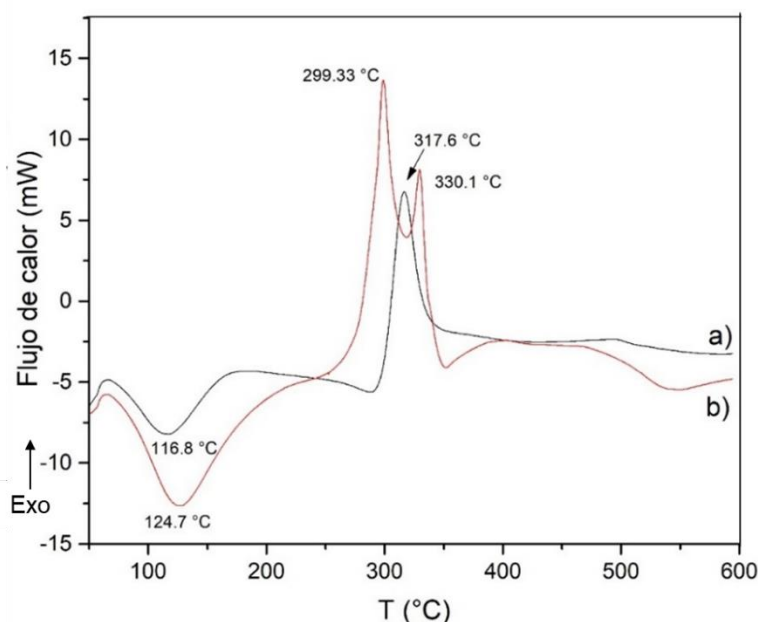
En la Figura 4.11 se muestra un ejemplo del análisis TGA/DTG, en el que se muestran los cambios de % de peso que experimentó la muestra CS8/CMC2-2. El pico de la velocidad máxima de pérdida de peso ayudó a definir el intervalo en el que la muestra perdió más peso, así como su máxima temperatura de descomposición. El pico situado a 206 °C de la curva DTG corresponde a la misma alteración de sensibilidad del equipo que se aprecia en las curvas de TGA.



**Figura 4.11** Curvas TGA/DTG de la muestra CS8/CMC2-2.

En la Figura 4.12 se presentan las curvas DSC de los polímeros en polvo utilizados para obtener las microesferas. Para el quitosano (a) se presentó una transición endotérmica en el rango de los 63.2 °C a 179 °C con un pico centrado en 116°C que se asocia con la pérdida de humedad en la muestra, posteriormente se presentó una transición exotérmica con un máximo en 317.6 °C y una entalpía de transición de 222.6 J/g atribuida a la despolimerización.

La curva DSC correspondiente a la carboximetilcelulosa (b) se registró un pico endotérmico entre los 69.8 °C y 194.2 °C con un máximo en 124.7 °C atribuido a la deshidratación de la muestra, así mismo se localizaron dos picos exotérmicos; el primero centrado en 299.33 °C con una entalpía de 111.8 J/g y el segundo centrado en 330.1 °C con una entalpía de 27.9 J/g, ambos picos se relacionan con la despolimerización y procesos oxidativos.

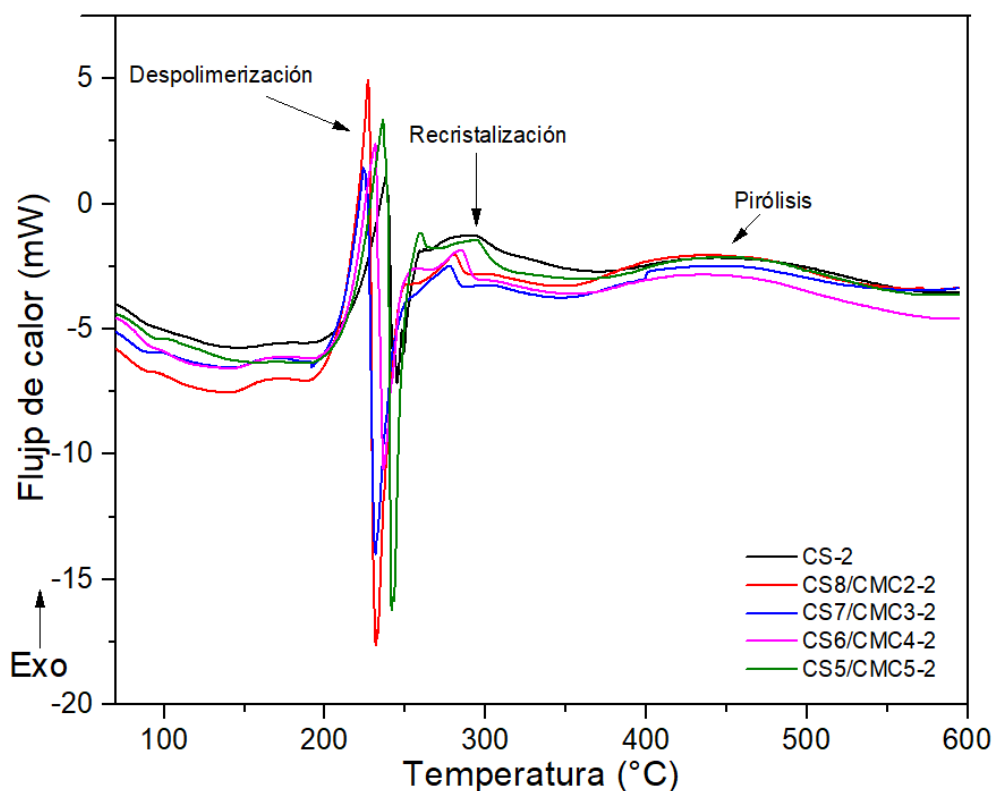


**Figura 4.12** Curvas DSC de a) quitosano puro (CS) y b) carboximetilcelulosa (CMC).

La Figura 4.13 muestra los diagramas termoanalíticos correspondientes a las microesferas obtenidas a 2 horas para su formación, se puede observar que todas las muestras con estas características exhibieron un comportamiento de flujo de calor similar, presentando un decremento del flujo de calor en un rango de temperaturas entre los 70 °C y 150 °C asociado a la pérdida de humedad.

También se observó la presencia de picos exotérmicos que mostraron tendencia a aumentar su temperatura máxima para las muestras que fueron obtenidas a partir de una mayor proporción de CMC como se muestra en la Tabla 4.2 lo que concuerda con los resultados obtenidos por XRD, ya que las muestras con mayor contenido de carboximetilcelulosa demostraron tener una densidad de entrecruzamiento mayor a aquellas con mayores proporciones de quitosano, por lo que las cadenas poliméricas tienen menor movilidad y por

lo tanto incrementa su temperatura de descomposición. Adicionalmente, se observó la presencia de picos exotérmicos menores que se atribuyen a procesos de recristalización.



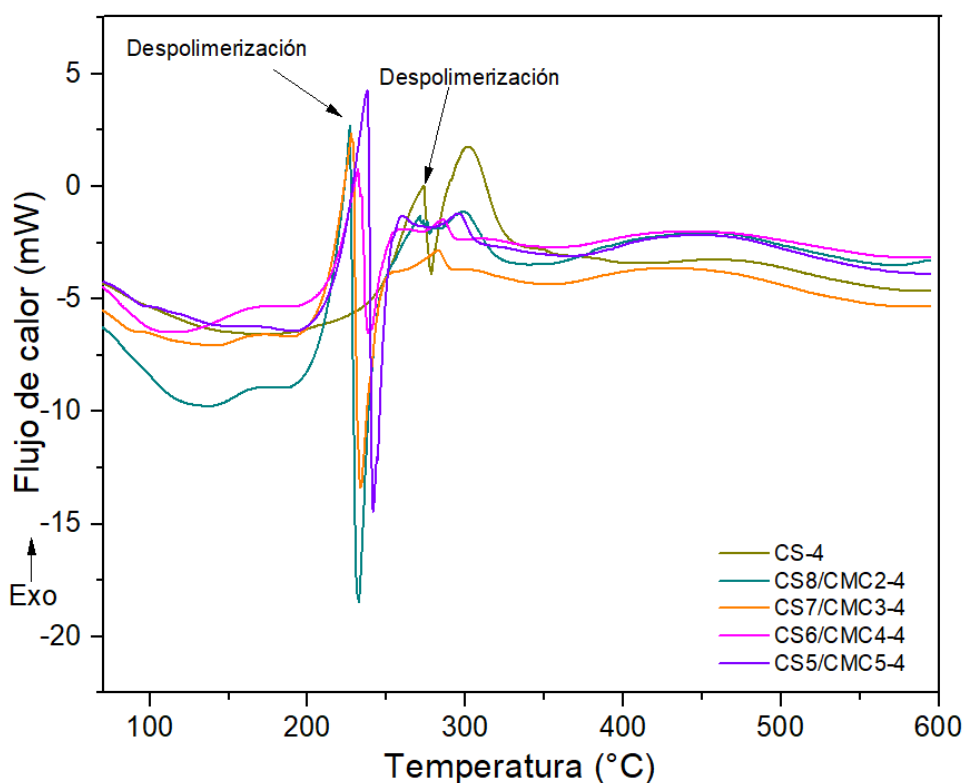
**Figura 4.13** Curvas DSC de las microesferas sin carga obtenidas a 2 h.

**Tabla 4.2** Transiciones térmicas de las microesferas obtenidas a 2 h.

| Muestra    | Eliminación de humedad (°C) | Pico exotérmico (°C) | Entalpía de transición (J/g) | Recristalización (°C) |
|------------|-----------------------------|----------------------|------------------------------|-----------------------|
| CS-2       | 67.3                        | 238.2                | 88.8                         | -                     |
| CS8/CMC2-2 | 65.6                        | 223.9                | 74.5                         | 259.7                 |
| CS7/CMC3-2 | 66.0                        | 226.7                | 51.7                         | 285.3                 |
| CS6/CMC4-2 | 67.1                        | 231.3                | 141.1                        | 280.7                 |
| CS5/CMC5-2 | 67.5                        | 236.46               | 166.0                        | 277.9                 |

En la Figura 4.14 se muestran los diagramas termoanalíticos DSC de las microesferas obtenidas a 4 horas, se observó que la muestra CS-4 exhibió transiciones térmicas distintas a

aquellas que fueron obtenidas a tiempos de 2 horas, así como a las muestras CS8/CMC2-4, CS7/CMC3-4, CS6/CMC4-4 y CS5/CMC5-4 que presentaron un pico menor exotérmico en el rango de temperaturas de 50 °C a los 114 °C, seguidos por un aumento de flujo de calor asociado al comienzo de la deshidratación y la ruptura del anillo glucosídico del quitosano, subsecuente se presentó un pico exotérmico debido a la despolimerización.



**Figura 4.14** Curvas DSC de las microesferas sin carga obtenidas a 4 h de entrecruzamiento.

Se encontró que las temperaturas máximas en los picos de transición correspondientes a la descomposición de las matrices fueron mayores para aquellas obtenidas a tiempos de 4 horas que para las muestras que se obtuvieron a 2 horas que presentan un corrimiento en las temperaturas a las que aparece la transición endotérmica.

Las temperaturas máximas en los picos endotérmicos para las muestras CS-2 y CS-4 que se formaron sin carboximetilcelulosa presentaron temperaturas de descomposición superiores a las de las microesferas obtenidas a partir de las mezclas de polímeros como se muestra en la Tabla 4.3, esto se atribuye a que el entrecruzamiento redujo la cristalinidad

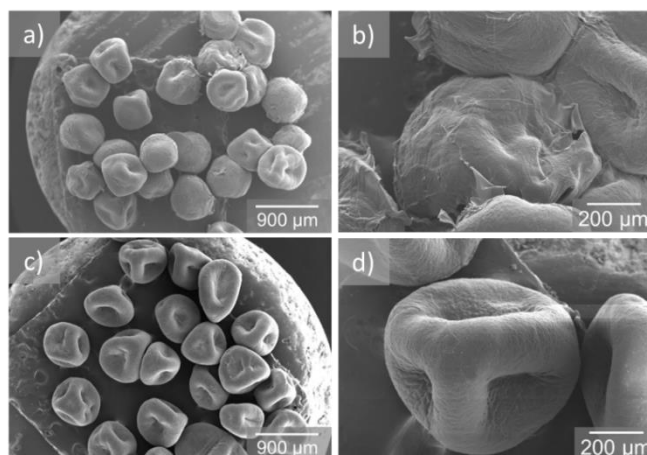
de las muestras lo que produjo una estabilidad térmica más baja. Además, es remarcable en estas muestras la ausencia de picos que indiquen recristalización.

**Tabla 4.3.** Transiciones térmicas de las microesferas obtenidas a 4 h.

| <b>Muestra</b>    | <b>Eliminación de humedad (°C)</b> | <b>Pico exotérmico (°C)</b> | <b>Entalpía de transición (J/g)</b> | <b>Recristalización (°C)</b> |
|-------------------|------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|------------------------------|
| <b>CS-4</b>       | 66.3                               | 273.8                       | 53.0                                | -                            |
| <b>CS8/CMC2-4</b> | 68.1                               | 226.7                       | 49.2                                | 301.0                        |
| <b>CS7/CMC2-4</b> | 65.6                               | 227.5                       | 37.8                                | 281.9                        |
| <b>CS6/CMC3-4</b> | 67.3                               | 231.8                       | 33.5                                | 287.1                        |
| <b>CS5/CMC5-4</b> | 68.5                               | 238.16                      | 28.6                                | 296.7                        |

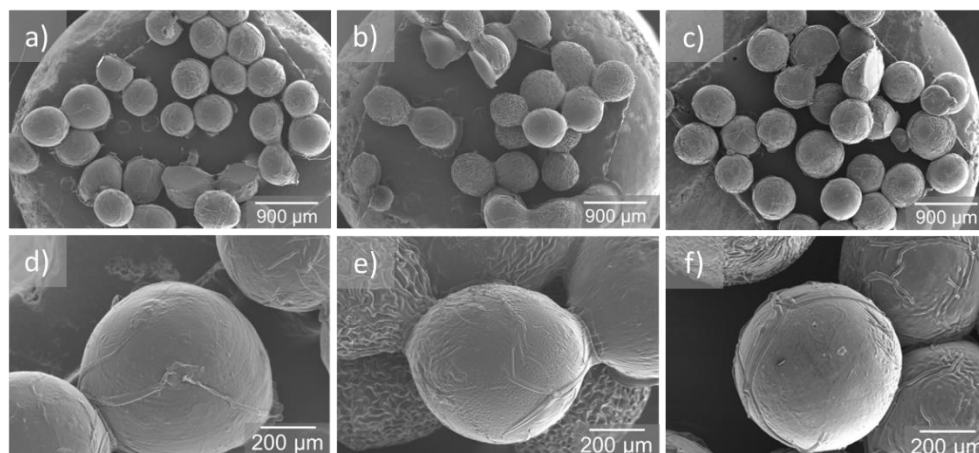
#### **4.1.4 Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

En la Figura 4.15 se presentan las micrografías a 25X y 100X de las muestras preparadas a partir de quitosano y tripolifosfato a tiempos de 2 y 4 horas (CS-2 y CS-4, respectivamente), se pudo observar que ambas muestras exhibieron una morfología esférica irregular visiblemente colapsada por la posible formación de esferas huecas debido a un bajo grado de interacción entre las cadenas del polímero policationico y la sal pentaniónica. También en la Figura 4.15 b) y d) se pudo apreciar que las caras colapsadas de las muestras crean valles rugosos hacia el centro de las microesferas, en algunos casos en esta zona también se presentó la ruptura de la matriz.



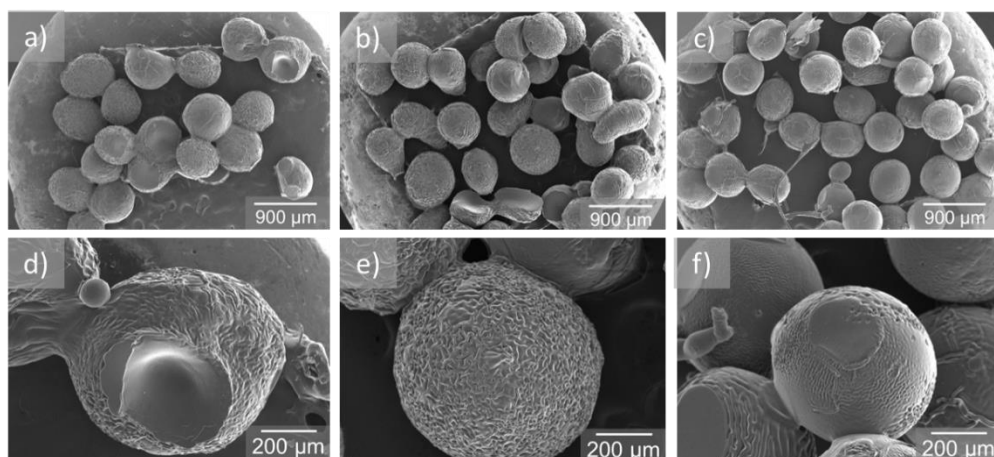
**Figura 4.15** Micrografías de a) CS-2 a 25X, b) CS-2 a 100X, c) CS-4 a 25X y d) CS-4 a 100X.

En las Figuras 4.16 y 4.17 se muestran las microesferas obtenidas a partir de la mezcla de quitosano y carboximetilcelulosa/tripolifosfato, las muestras CS8/CMC2-2, CS7/CMC3-2, y CS5/CMC5-2 mostraron morfología esférica más regular que las obtenidas solo con quitosano, así como superficies considerablemente más lisas que el resto de las muestras.

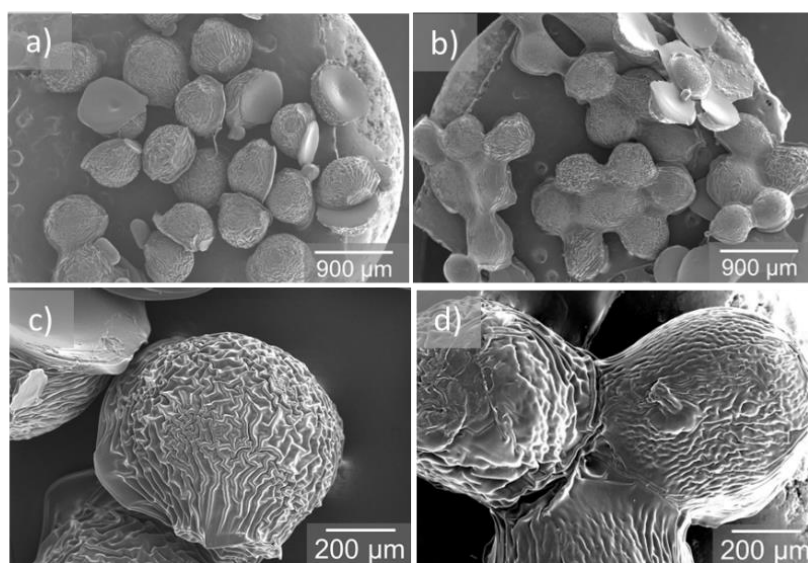


**Figura 4.16** Micrografías a 25 X de a) CS8/CMC2-2, b) CS7/CMC3-2 y c) CS5/CMC5-2 y micrografías a 100X de d) CS8/CMC2-2, e) CS7/CMC3-2 y f) CS5/CMC5-2.

Las muestras obtenidas a tiempos de 4 horas (Figura 4.17) mostraron tendencia a formar cuellos y uniones con microesferas cercanas que resultaron en aglomerados y superficies más rugosas, debido a que a mayor tiempo de agitación las cadenas poliméricas presentan una mayor interacción entre ellas, resultando no solo en microesferas con más alto grado de entrecruzamiento, sino en este tipo de uniones entre microesferas.



**Figura 4.17** Micrografías a 25 X de a) CS8/CMC2-4, b) CS7/CMC3-4 y c) CS5/CMC5-4 y Micrografías a 100X de d) CS8/CMC2-4, e) CS7/CMC3-4 y f) CS5/CMC5-4. Por otro lado, en la Figura 4.18 se muestran las micrografías correspondientes a las microesferas obtenidas con las proporciones CS6/CMC4 a los diferentes tiempos de agitación, para ambos tiempos (2 y 4 horas) se pudo observar que las muestras presentan morfologías de medias esferas que asemejan la forma de nueces, así mismo se pudo observar la tendencia a la formación de cuellos y aglomeraciones, también se detectaron caras aplanadas con la parte superior con notable rugosidad respecto al resto de las muestras.



**Figura 4.18** Micrografía de a) CS6/CMC4-2 a 25X, b) CS6/CMC4-2 a 100X, c) CS6/CMC4-4 a 25X y d) CS6/CMC4-4 a 100X.

En la Tabla 4.4 se muestran datos de diámetro promedio, el rango de diámetros (clase) en el que se encuentra la mayoría de los datos, así como la desviación estándar que presentaron las diferentes microesferas obtenidas.

Según los datos de desviación estándar presentados en la tabla, la muestra con tamaños más homogéneos es la que se obtuvo a partir de proporciones iguales de quitosano y carboximetilcelulosa a 2 horas de entrecruzamiento (CS5/CMC5-2) con  $\pm 40.8 \mu\text{m}$  de desviación estándar. Adicionalmente, es posible observar que las muestras que presentan diámetros con mayor desviación estándar son aquellas que también mostraron estructuras colapsadas y más rugosas como las muestras CS6/CMC4-2 y CS6/CMC4-4, con  $\sigma$  de  $\pm 111.9 \mu\text{m}$  y  $\pm 109.9 \mu\text{m}$ , respectivamente.

Debido a que la desviación estándar mostró que la distribución de tamaños no es homogénea para la mayoría de las muestras, en la Tabla 4.4 se muestran los rangos de tamaño entre los que se encuentran la mayoría de los diámetros medidos para cada muestra como dato más representativo de los tamaños de las microesferas.

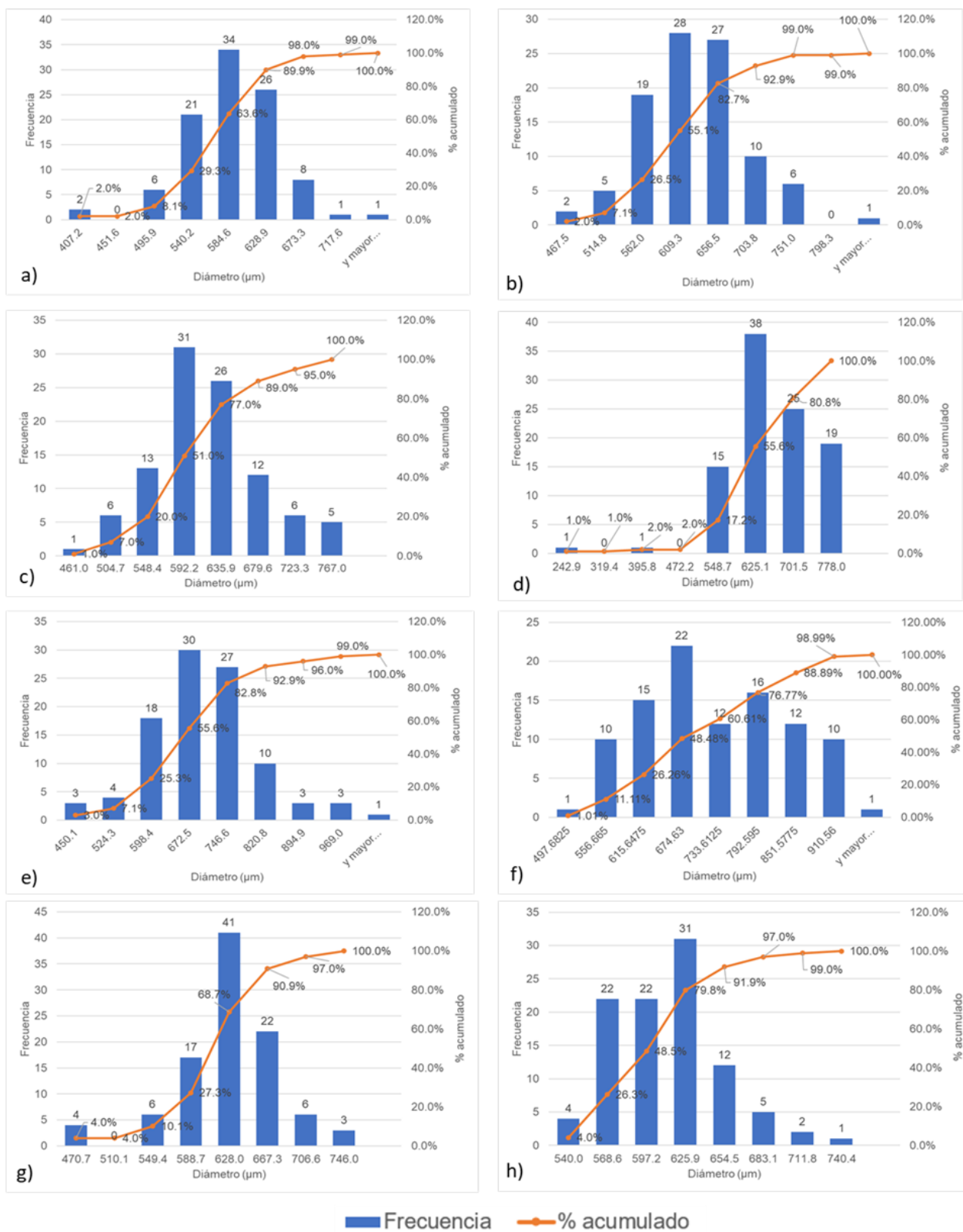
**Tabla 4.4** Datos estadísticos sobre los diámetros en  $\mu\text{m}$  de las microesferas sin carga.

| <b>Muestra</b> | <b>Tamaño promedio<br/>(<math>\mu\text{m}</math>)</b> | <b>Rango de tamaños<br/>más frecuente<br/>(<math>\mu\text{m}</math>)</b> | <b>Desviación<br/>estándar <math>\sigma</math> (<math>\mu\text{m}</math>)</b> |
|----------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| CS-2           | 578.7                                                 | 611-633                                                                  | 70.1                                                                          |
| CS-4           | 565.9                                                 | 589-606                                                                  | 65.2                                                                          |
| CS8/CMC2-2     | 564.8                                                 | 540-584                                                                  | 54.7                                                                          |
| CS8/CMC2-4     | 600.4                                                 | 562-609                                                                  | 64.3                                                                          |
| CS7/CMC3-2     | 594.93                                                | 548-592                                                                  | 65.8                                                                          |
| CS7/CMC3-4     | 622.2                                                 | 548-625                                                                  | 89.7                                                                          |
| CS6/CMC4-2     | 661.4                                                 | 598-672                                                                  | 111.9                                                                         |
| CS6/CMC4-4     | 696.6                                                 | 615-674                                                                  | 109.9                                                                         |
| CS5/CMC5-2     | 598.3                                                 | 597-625                                                                  | 40.8                                                                          |
| CS5/CMC5-4     | 607.36                                                | 588-628                                                                  | 54.4                                                                          |

La muestra CS6/CMC4-4 presentó el mayor diámetro promedio con 696.6  $\mu\text{m}$ , mientras que la muestra CS8/CMC2-2 exhibió un diámetro promedio de 564.8  $\mu\text{m}$ . Las muestras obtenidas a partir de mezclas de polímeros mostraron tendencia incrementar el diámetro de las partículas conforme se incrementó el tiempo que fueron expuestas a agitación, como se puede observar para las muestras CS8/CMC2-4, CS7/CMC3-4 y CS6/CMC4-4. Sin embargo, para las muestras obtenidas a partir de quitosano puro a diferentes tiempos (CS-2 y CS-4) el diámetro promedio fue mayor para las muestras obtenidas a menor tiempo de entrecruzamiento.

En la Figura 4.19 se muestran los histogramas y las gráficas de frecuencia correspondientes a las muestras obtenidas a partir de mezclas de polímeros. A partir de estos gráficos se observó que para la muestra CS8/CMC2-2 el 82% de las microesferas medidas presentaron diámetros menores a los 656  $\mu\text{m}$ . Para muestra CS7/CMC3-2 el 50% de los datos coinciden con la clase de diámetros que se presentó con mayor frecuencia, también se observó que el 80% de los diámetros tuvieron tamaños menores a los 635  $\mu\text{m}$ . La muestra CS6/CMC4-2 mostró una amplia desviación estándar debido a que se registraron diámetros con tamaños menores y mayores al promedio, aunque estos aparecieron con poca frecuencia y son más representativos los diámetros de la clase 598-672  $\mu\text{m}$  que representa el 30% del total de los diámetros. La gráfica de porcentaje acumulado de la muestra CS5/CMC5-2 demostró que el 80% de los diámetros es menor a los 625  $\mu\text{m}$  y en la clase de 470-510  $\mu\text{m}$  la frecuencia fue cero.

Por otro lado, la muestra CS8/CMC2-4 el 89% de los diámetros resultaron de tamaños menores a 628  $\mu\text{m}$ . En el histograma y el gráfico de frecuencia de la muestra CS7/CMC3-4 se observó que solo el 2% de los diámetros es menor a los 472  $\mu\text{m}$  y la clase con una mayor frecuencia es la de 548-625  $\mu\text{m}$ . La muestra CS6/CMC4-4 presentó la desviación estándar más amplia de todas las muestras, debido a que se encontraron diámetros desde los 376  $\mu\text{m}$  hasta los 969  $\mu\text{m}$ . En la gráfica de la muestra CS5/CMC5-4 se pudo confirmar que el 80% de los diámetros es menor a 625  $\mu\text{m}$  y la clase en la que se registraron los diámetros de mayor tamaño fue de 711 a 740  $\mu\text{m}$  que representa solo el 1% de los diámetros medios.



**Figura 4.19** Histograma y gráfica de frecuencia de a) CS8/CMC2-2, b) CS8/CMC2-4, c) CS7/CMC3-2, d) CS7/CMC3-4, e) CS6/CMC4-2, f) CS6/CMC4-4, g) CS5/CMC5-2 y h) CS5/CMC5-4.

#### 4.1.5 Rendimiento de polímeros

En la Tabla 4.5 se muestran los porcentajes de rendimiento de los polímeros utilizados para la formación de las microesferas. Dichos porcentajes de rendimiento fueron calculados como se describió en el apartado 3.4.

**Tabla 4.5** Porcentajes de rendimiento de los polímeros.

| <b>Muestra</b>    | <b>Repetición<br/>1</b> | <b>Repetición<br/>2</b> | <b>Repetición<br/>3</b> | <b>% de<br/>rendimiento<br/>promedio</b> | <b>Desviación<br/>estándar <math>\sigma</math></b> |
|-------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| <b>CS-2</b>       | 98.74                   | 97.13                   | 96.43                   | 97.4                                     | 1.19                                               |
| <b>CS-4</b>       | 94.92                   | 99.53                   | 96.01                   | 96.8                                     | 2.41                                               |
| <b>CS8/CMC2-2</b> | 93.27                   | 90.36                   | 91.81                   | 91.8                                     | 1.45                                               |
| <b>CS8/CMC2-4</b> | 105.49                  | 105.67                  | 102.07                  | 104.4                                    | 2.03                                               |
| <b>CS7/CMC3-2</b> | 87.13                   | 83.98                   | 83.38                   | 84.8                                     | 2.01                                               |
| <b>CS7/CMC3-4</b> | 84.00                   | 84.96                   | 84.19                   | 84.4                                     | 0.51                                               |
| <b>CS6/CMC4-2</b> | 67.23                   | 69.06                   | 70.24                   | 68.8                                     | 1.52                                               |
| <b>CS6/CMC4-4</b> | 69.02                   | 72.42                   | 71.35                   | 70.9                                     | 1.74                                               |
| <b>CS5/CMC5-2</b> | 56.56                   | 55.22                   | 55.50                   | 55.8                                     | 0.71                                               |
| <b>CS5/CMC5-4</b> | 58.90                   | 56.36                   | 55.77                   | 57.0                                     | 1.67                                               |

Se pudo constatar que, a mayor proporción de carboximetilcelulosa agregada a las microesferas, menor es el rendimiento de los polímeros utilizado, lo cual puede ser atribuido a que la menor presencia de quitosano implicó también un menor número de grupos funcionales  $\text{NH}_3^+$  disponibles para formar interacciones electrostáticas entre polímeros.

Por otro lado, la muestra CS8/CMC2-4 presentó rendimientos superiores al 100% que se atribuyen al rendimiento de polímeros más alto comparado al resto de las muestras, más aproximadamente un 5% adicional en peso correspondiente a agua cristalizada o ligada químicamente como se pudo comprobar por la técnica de TGA/DSC.

La desviación estándar presentada por las muestras fue de  $\sigma = 2.41$  el valor más alto, y de  $\sigma = 0.51\%$  el valor más bajo, que corresponde a la muestra CS7-4. Así mismo, se comprobó

que el tiempo de entrecruzamiento más prolongado no afecta significativamente el porcentaje de rendimiento de los polímeros, pues las diferencias en porcentaje documentadas no presentan una tendencia a incrementar conforme incrementó el tiempo de formación, por ejemplo, las muestras CS-2, CS7/CMC3-2 mostraron un mayor rendimiento a un periodo de tiempo menos prolongado.

#### 4.1.6 Fracción soluble en agua

En la Tabla 4.6 se presentan los promedios de pérdida de masa después del ensayo de fracción soluble en agua. Se pudo observar que las muestras presentaron una tendencia a una mayor pérdida de masa cuando éstas fueron obtenidas agregando mayores proporciones de CMC debido al carácter hidrofílico de este polímero.

**Tabla 4.6** Fracción soluble en agua de las microesferas sin carga.

|            | 1° repetición | 2° repetición | 3° repetición | Promedios (%) | Desviación estándar $\sigma$ |
|------------|---------------|---------------|---------------|---------------|------------------------------|
| CS-2       | 3.98          | 4.87          | 4.38          | 4.41          | 0.44                         |
| CS-4       | 4.76          | 6.59          | 8.14          | 6.50          | 1.70                         |
| CS8/CMC2-2 | 2.86          | 3.87          | 2.50          | 3.08          | 0.71                         |
| CS8/CMC2-4 | 5.17          | 6.87          | 4.83          | 5.62          | 1.09                         |
| CS7/CMC3-2 | 6.52          | 4.54          | 4.69          | 5.25          | 1.11                         |
| CS7/CMC3-4 | 6.08          | 6.27          | 5.67          | 6.01          | 0.31                         |
| CS6/CMC4-2 | 5.44          | 5.70          | 6.19          | 5.78          | 0.38                         |
| CS6/CMC4-4 | 6.54          | 7.29          | 7.71          | 7.18          | 0.59                         |
| CS5/CMC5-2 | 6.41          | 7.22          | 8.73          | 7.45          | 1.18                         |
| CS5/CMC5-4 | 7.29          | 8.21          | 7.07          | 7.52          | 0.60                         |

También se constató que la masa solubilizada en agua presentó mayores porcentajes en las muestras obtenidas a tiempos de entrecruzamiento de 4 horas. Sin embargo, conforme

incrementó la proporción de CMC presente en las matrices, las diferencias de porcentaje promedio entre las muestras obtenidas a 2 y 4 horas disminuyeron.

Los valores de desviación estándar que presentaron las muestras fueron relativamente bajos, yendo desde  $\pm 0.31$  % hasta  $\pm 1.70$  % de variación. Las muestras obtenidas con proporciones CS8/CMC2 y CS5/CMC5 mostraron valores de desviación estándar mayores en las muestras obtenidas a dos horas de entrecruzamiento, al contrario de las muestras de proporciones CS7/CMC3 y CS6/CMC4 en las que la desviación estándar fue mayor para las muestras entrecruzadas a tiempos de cuatro horas.

Por otro lado, se encontró que el porcentaje de masa solubilizado en las microesferas obtenidas a partir de las mezclas CS/CMC en sus diferentes proporciones demostraron ser menores que otros sistemas reportados anteriormente, tal es el caso del sistema quitosano/almidón para el que se han reportado porcentajes de fracción soluble en agua de entre el 6 y 10% [63]. El menor porcentaje de fracción soluble en agua se atribuye al alto grado de entrecruzamiento que presentan las microesferas obtenidas.

#### ***4.1.7 Porcentaje de hinchamiento***

Este ensayo se realizó para comprobar la capacidad de las microesferas para absorber un solvente y se utilizó como una aproximación para definir si las microesferas obtenidas eran adecuadas para la carga de agente activo por el método de inmersión en una solución de  $\text{KNO}_3$ , los resultados se muestran en la Tabla 4.7.

A pesar de los datos obtenidos por la técnica de XRD donde se observó que las microesferas sin carga presentaban amorficidad debida al alto grado de entrecruzamiento, que se traduce en menor espacio entre las cadenas de los polímeros que conforman las microesferas, los ensayos de porcentaje de hinchamiento mostraron que las microesferas sin carga fueron capaces de absorber agua destilada hasta incrementar hasta 1.6 veces su peso original en seco. Siendo las muestras obtenidas a partir de quitosano solamente (CS-2 y CS-4), las que presentaron un menor porcentaje promedio de hinchamiento, lo que indicó que estas muestras podrían tener un menor porcentaje de carga. En cuanto al resto de las muestras se encontró que aquellas que fueron formadas a menores tiempos de entrecruzamiento fueron las que

mostraron una mejor capacidad de hinchamiento debido a la menor densidad de entrecruzamiento de las muestras, excepto para las muestras CS5/CMC5-2 y CS5/CMCM5-4. La desviación estándar ( $\sigma$ ) para las muestras obtenidas a 2 horas de entrecruzamiento fue desde  $\pm 3.21\%$  a  $\pm 9.30\%$ , mientras que para las muestras obtenidas a 4 horas de entrecruzamiento fue desde  $\pm 3.79\%$  a  $\pm 21.53\%$ .

**Tabla 4.7** Porcentajes de hinchamiento de las microesferas sin carga.

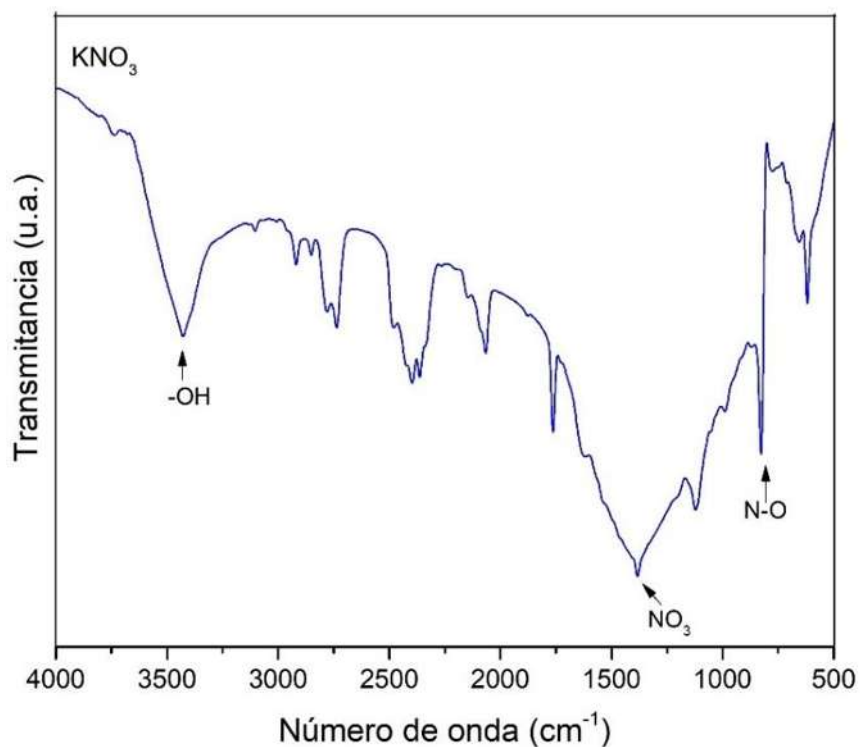
| Muestra    | 1°<br>repetición | 2°<br>repetición | 3°<br>repetición | Promedios<br>(%) | Desviación<br>estándar $\sigma$ |
|------------|------------------|------------------|------------------|------------------|---------------------------------|
| CS-2       | 88.14            | 91.11            | 95.82            | 91.7             | 3.87                            |
| CS-4       | 111.0            | 99.18            | 101.82           | 104.0            | 6.20                            |
| CS8/CMC2-2 | 168.0            | 168.21           | 154.84           | 163.7            | 7.65                            |
| CS8/CMC2-4 | 158.34           | 169.16           | 134.71           | 154.1            | 17.62                           |
| CS7/CMC3-2 | 153.30           | 148.76           | 154.98           | 152.3            | 3.21                            |
| CS7/CMC3-4 | 140.85           | 148.03           | 142.30           | 143.7            | 3.79                            |
| CS6/CMC4-2 | 158.32           | 147.00           | 161.49           | 155.6            | 7.62                            |
| CS6/CMC4-4 | 128.60           | 157.65           | 157.23           | 147.8            | 16.65                           |
| CS5/CMC5-2 | 144.25           | 130.97           | 148.90           | 141.4            | 9.30                            |
| CS5/CMC5-4 | 138.08           | 180.86           | 155.27           | 158.1            | 21.53                           |

## 4.2 Caracterización de microesferas con carga

### 4.2.1 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

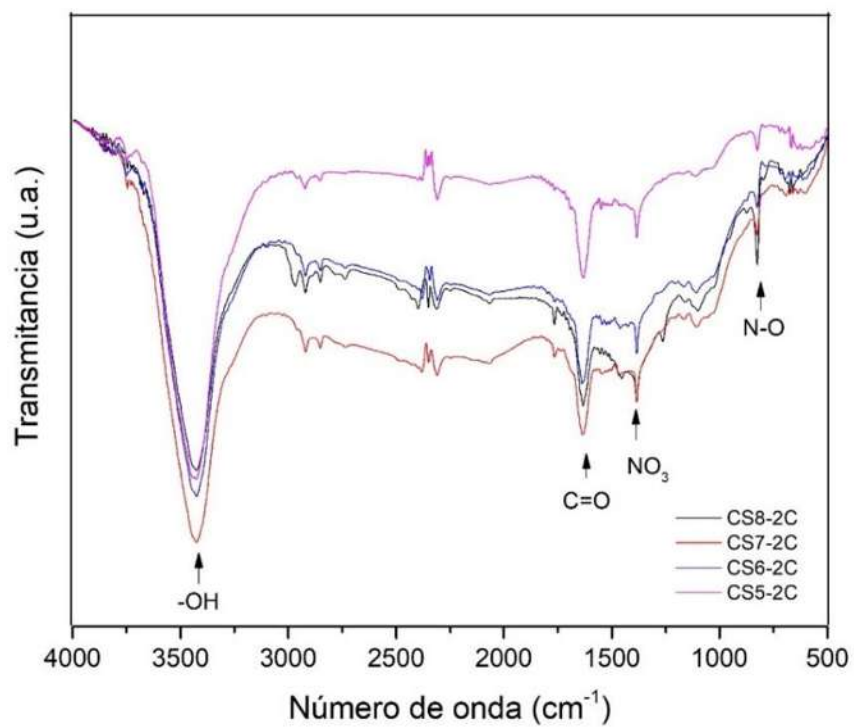
En la Figura 4.20 se muestra el espectro del nitrato de potasio grado agrícola utilizado para cargar las microesferas. El nitrato de potasio grado agrícola es una sal con una pureza del 99.4%, por lo que puede contener bajos porcentajes de humedad, sulfatos, cloruros, nitritos y hierro. A  $3427\text{ cm}^{-1}$  se identificó una banda correspondiente a grupos -OH. La banda presente a  $1382\text{ cm}^{-1}$  corresponde al movimiento simétrico por vibraciones de estiramiento

del grupo  $\text{NO}_3$ . Por otro lado, la banda aguda encontrada a  $827\text{ cm}^{-1}$  se asoció a la vibración por flexión del grupo N-O [82, 83].

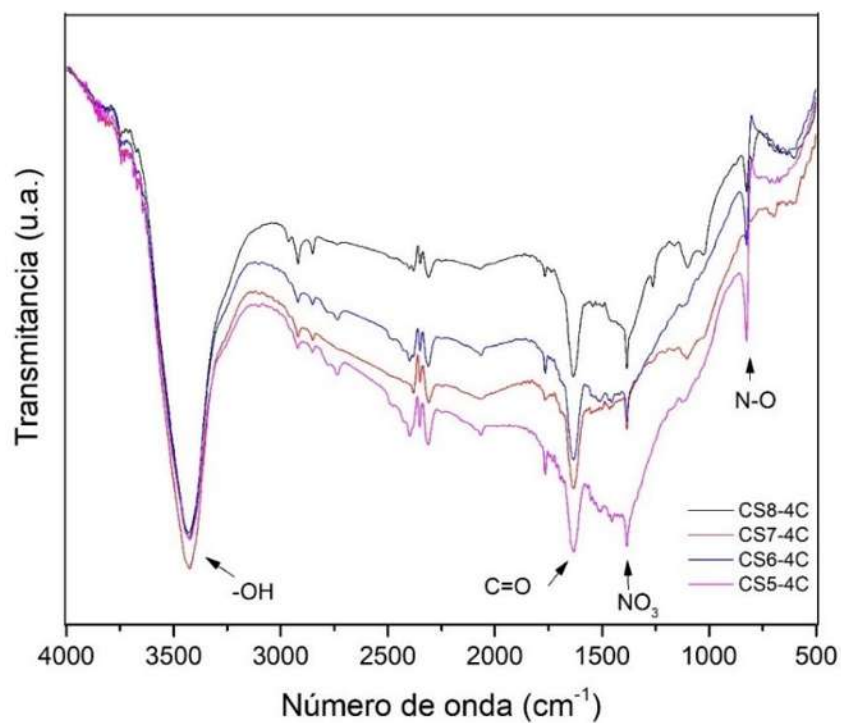


**Figura 4.20** FTIR de nitrato de potasio grado agrícola.

En las Figuras 4.21 y 4.22 se muestran los espectros FTIR de las diferentes muestras de microesferas con carga. Se localizaron bandas a  $3427\text{ cm}^{-1}$  y  $1633\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a los grupos funcionales -OH y C=O, respectivamente, estos grupos funcionales se asociaron a los polímeros que conforman las microesferas. También se notó la presencia de bandas a  $1382\text{ cm}^{-1}$  y  $825\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a los grupos  $\text{NO}_3$  y N-O, respectivamente, estos grupos funcionales son característicos del  $\text{KNO}_3$  utilizado como agente activo cargado en las microesferas. Para todas las muestras con carga, se identificaron los mismos grupos funcionales. Sin embargo, es posible que entre los  $1550\text{ cm}^{-1}$  y  $1000\text{ cm}^{-1}$  se encuentren traslapadas las bandas de la unión C-N y  $-\text{NH}_2$  características de la complejación de los polímeros utilizados para formar las microesferas con las bandas características del  $\text{KNO}_3$ .



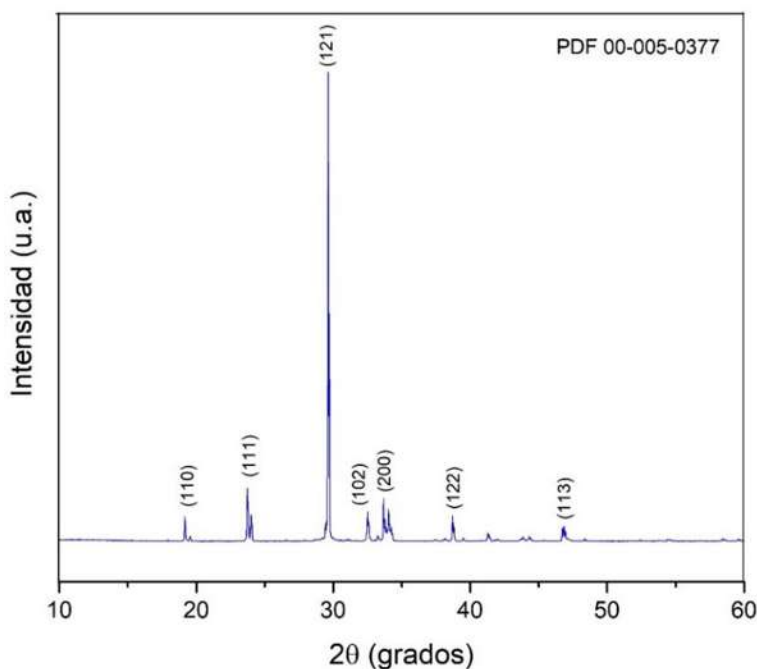
**Figura 4.21** FTIR de las microesferas con carga obtenidas a 2 h de entrecruzamiento.



**Figura 4.22** FTIR de las microesferas con carga obtenidas a 4 h de entrecruzamiento.

#### 4.2.2 Difracción de rayos X (XRD)

En la Figura 4.23 se muestra el difractograma de rayos X del  $\text{KNO}_3$  puro con el que fueron cargadas las microesferas, se pudieron identificar picos a  $2\theta = 19^\circ, 23^\circ, 29^\circ, 32^\circ, 33^\circ, 38^\circ$  y  $46^\circ$  que coinciden con la tarjeta PDF 00-005-0377 correspondiente al  $\text{KNO}_3$  con sistema cristalino ortorrómico.

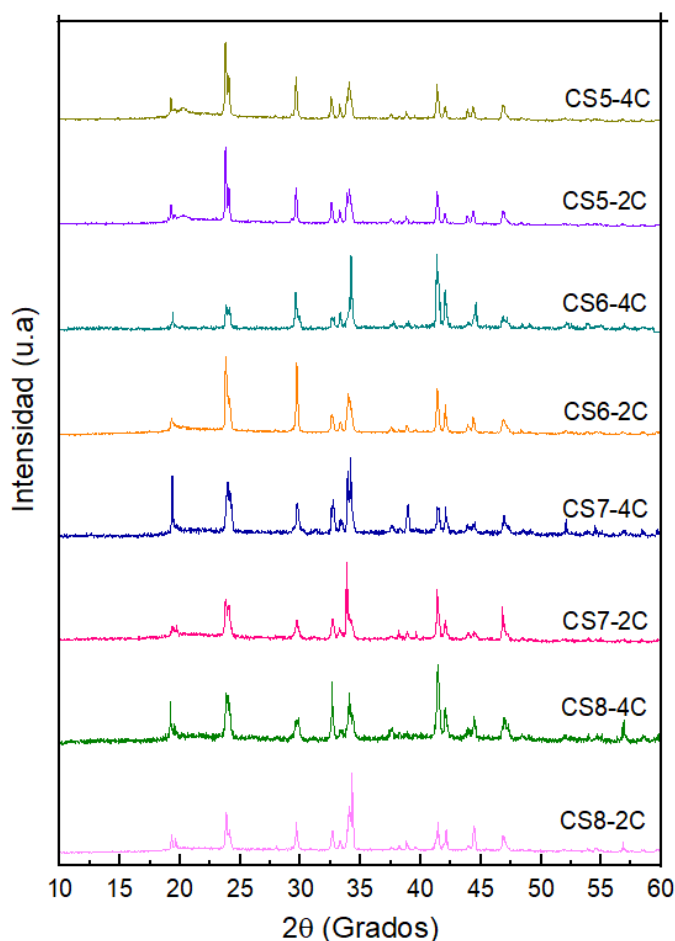


**Figura 4.23** Difractograma de rayos X del  $\text{KNO}_3$  tarjeta PDF 00-005-0377.

El nitrato de potasio es una sal ternaria compuesta de potasio, un metal alcalino, y del anión nitrato. Su fórmula química es  $\text{KNO}_3$ , es decir, por cada ion  $\text{K}^+$ , hay un ion  $\text{NO}_3^-$  interaccionando con éste. La geometría del anión  $\text{NO}_3^-$  es la de un plano trigonal, los iones  $\text{K}^+$  del cristal evitan situarse justo por encima o por debajo del nitrógeno de los aniones  $\text{NO}_3^-$ , éstas interacciones son responsables de los arreglos cristalinos. Si bien a temperatura ambiente el  $\text{KNO}_3$  tiene un arreglo cristalino ortorrómico, las variaciones de temperatura y presión pueden causar cambios de fase.

Los difractogramas de rayos X de las microesferas de las diferentes composiciones con carga se muestran en la Figura 4.24. Los patrones XRD de todas las muestras presentaron picos característicos cerca de  $2\theta = 19^\circ, 23^\circ, 30^\circ, 32^\circ, 41^\circ$  y  $46^\circ$  que coinciden parcialmente con los

picos identificados para el  $\text{KNO}_3$  puro de la Figura 4.23, sin embargo, para las microesferas con carga, algunos picos presentaron un corrimiento hacia ángulos superiores, tal es el caso del pico intenso a  $29^\circ$  para el  $\text{KNO}_3$  puro que para las microesferas presentó menor intensidad y un corrimiento hasta los  $30^\circ$ , los datos reportados por Santos-Pereira y col. [74] mostraron picos similares que se atribuyen a variaciones por la presencia de los polímeros presentes en la matriz. La variación de intensidad de los picos a  $2\theta = 19^\circ$  puede ser atribuida a la superposición del pico característico de quitosano con el primer pico correspondiente al  $\text{KNO}_3$ , lo cual confirma la presencia de esta sal en la superficie de las microesferas, el espesor de esta capa de  $\text{KNO}_3$  es de aproximadamente 24.93 como pudo ser comprobado por SEM.

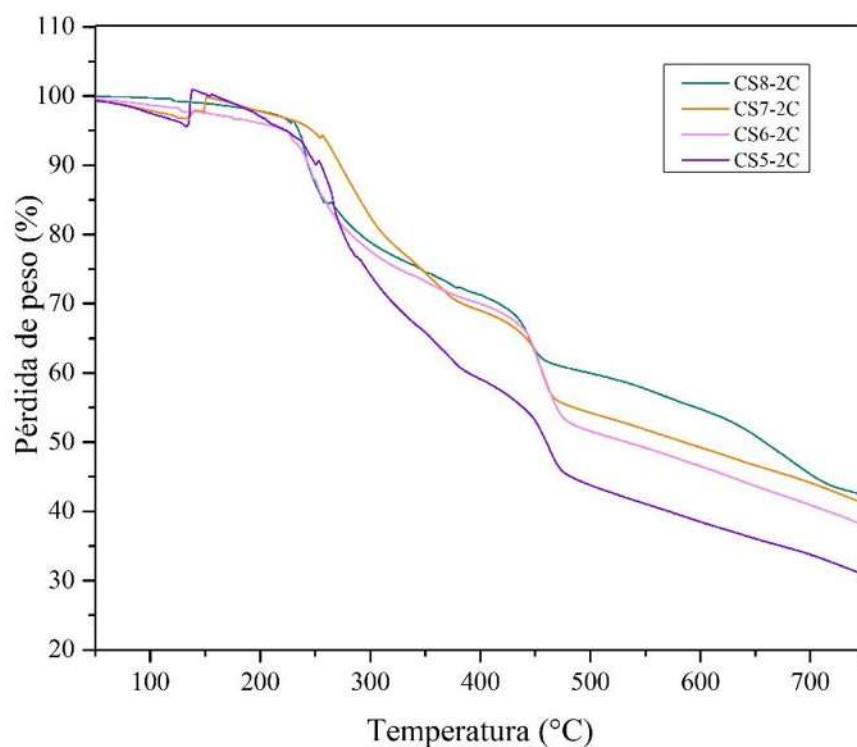


**Figura 4.24** Difractogramas de rayos X de las microesferas con carga.

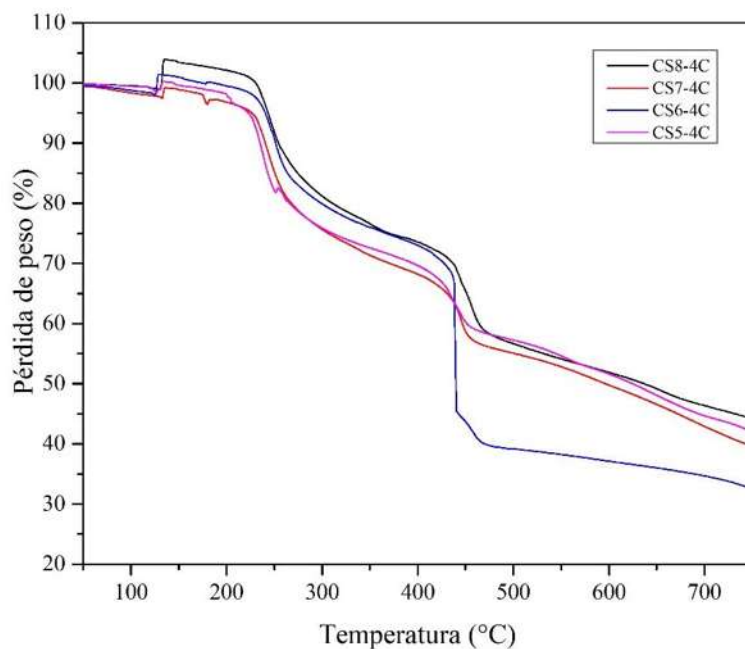
#### 4.2.3 Análisis termogravimétrico/calorimetría diferencial de barrido (TGA/DSC)

En las Figuras 4.25 y 4.26 se presentan los diagramas termoanalíticos correspondientes a las microesferas con carga. Se observó que el comportamiento térmico de todas las muestras es muy similar y se identificaron tres principales etapas de pérdida de peso, iniciando con la pérdida de peso por humedad, posteriormente la etapa de despolimerización y finalmente la etapa de volatilización de residuos.

Entre los 70 °C y 160 °C ocurre un pequeño cambio por pérdida de peso que se atribuye a la pérdida de humedad y agua ligada químicamente. Esta representó entre el 3.2-5.6% de la pérdida total de peso, siendo mayores las pérdidas registradas para aquellas muestras con mayor contenido de carboximetilcelulosa en su formulación.

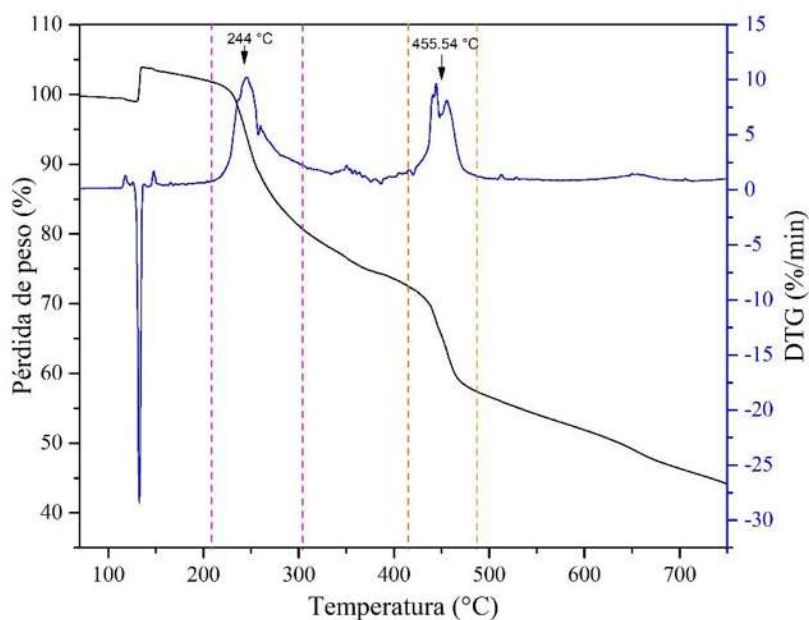


**Figura 4.25** Diagramas termoanalíticos de las microesferas con carga obtenidas a 2 h de entrecruzamiento.



**Figura 4.26** Diagramas termoanalíticos de las microesferas con carga obtenidas a 4 h de entrecruzamiento

Por medio de las curvas DTG se apreciaron dos etapas principales de pérdida de peso para todas las muestras con carga, en la Figura 4.27 se muestra un ejemplo del comportamiento de las curvas TGA/DTG.



**Figura 4.27** TGA/DTG de la muestra CS8-4C.

La mayor pérdida de masa se atribuye a la descomposición de los polímeros en segmentos más pequeños debido a la ruptura de enlaces en la cadena principal de los polímeros, alcanzando las temperaturas máximas de descomposición entre los 240-266 °C, los datos precisos para cada muestra se concentran en la Tabla 4.8. En el rango de temperaturas de los 300-400 °C las muestras presentaron una etapa de estabilización, que se cree que podría estar relacionada con la fusión del KNO<sub>3</sub>. Por lo tanto, la última etapa de pérdida de peso, atribuida a la volatilización de residuos y liberación de gases como H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CO, CH<sub>4</sub> y C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, se completó a partir de los 440 °C.

**Tabla 4.8** DTG – temperaturas máximas de descomposición de las microesferas con carga.

| <b>Muestra</b> | <b>Etap 1</b>                                             | <b>Etap 2</b>                                             |
|----------------|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
|                | <b>Temperatura de máxima<br/>velocidad de cambio (°C)</b> | <b>Temperatura de máxima<br/>velocidad de cambio (°C)</b> |
| <b>CS8-2C</b>  | 240                                                       | 443                                                       |
| <b>CS8-4C</b>  | 244                                                       | 455                                                       |
| <b>CS7-2C</b>  | 242                                                       | 445                                                       |
| <b>CS7-4C</b>  | 266                                                       | 455                                                       |
| <b>CS6-2C</b>  | 241                                                       | 441                                                       |
| <b>CS6-4C</b>  | 250                                                       | 446                                                       |
| <b>CS5-2C</b>  | 239                                                       | 445                                                       |
| <b>CS5-4C</b>  | 258                                                       | 458                                                       |

Los porcentajes de pérdidas de masa para cada etapa se presentan en la Tabla 4.9. El porcentaje de masa remanente hasta los 750 °C para las muestras CS8-2C, CS8-4C, CS7-2C y CS7-4C resultó mayor, lo que puede ser asociado a las muestras con una mayor carga de KNO<sub>3</sub> ya que esta sal se descompone a temperaturas aún mayores que los 580°C.

Se observó que, las muestras obtenidas a 4 horas de entrecruzamiento presentaron temperaturas máximas de descomposición más elevadas que las muestras obtenidas a 2 horas. Sin embargo, estas muestras perdieron un mayor porcentaje en peso en esta zona.

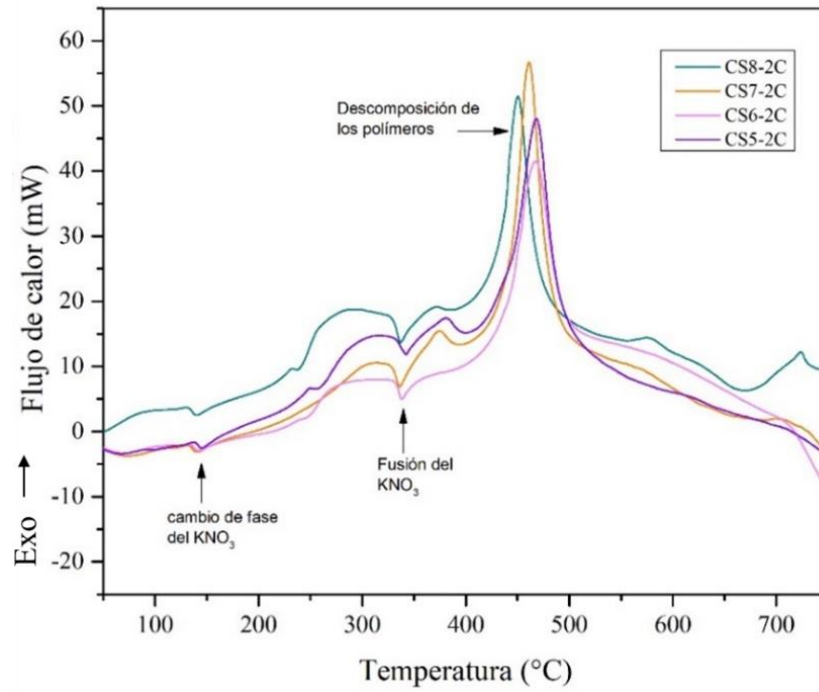
**Tabla 4.9** Etapas de descomposición térmica de las microesferas con carga.

| <b>Muestra</b> | <b>Etapa 1</b>     |                      | <b>Etapa 2</b>     |                      | <b>% de masa remanente a 750°C</b> |
|----------------|--------------------|----------------------|--------------------|----------------------|------------------------------------|
|                | Intervalo de T(°C) | % de pérdida de masa | Intervalo de T(°C) | % de pérdida de masa |                                    |
| <b>CS8-2C</b>  | 226-262            | 17.78                | 418-474            | 12.8                 | 43.35                              |
| <b>CS8-4C</b>  | 211-303            | 21.31                | 426-483            | 14.68                | 46.35                              |
| <b>CS7-2C</b>  | 192-322            | 23.56                | 383-499            | 13.91                | 44.11                              |
| <b>CS7-4C</b>  | 221-381            | 26.80                | 396-512            | 15.5                 | 42.89                              |
| <b>CS6-2C</b>  | 186-307            | 20.0                 | 391-523            | 19.83                | 40.89                              |
| <b>CS6-4C</b>  | 199-299            | 19.65                | 399-497            | 33.68                | 34.67                              |
| <b>CS5-2C</b>  | 227-287            | 17.81                | 402-497            | 14.85                | 33.74                              |
| <b>CS5-4C</b>  | 209-295            | 20.44                | 381-491            | 13.45                | 44.62                              |

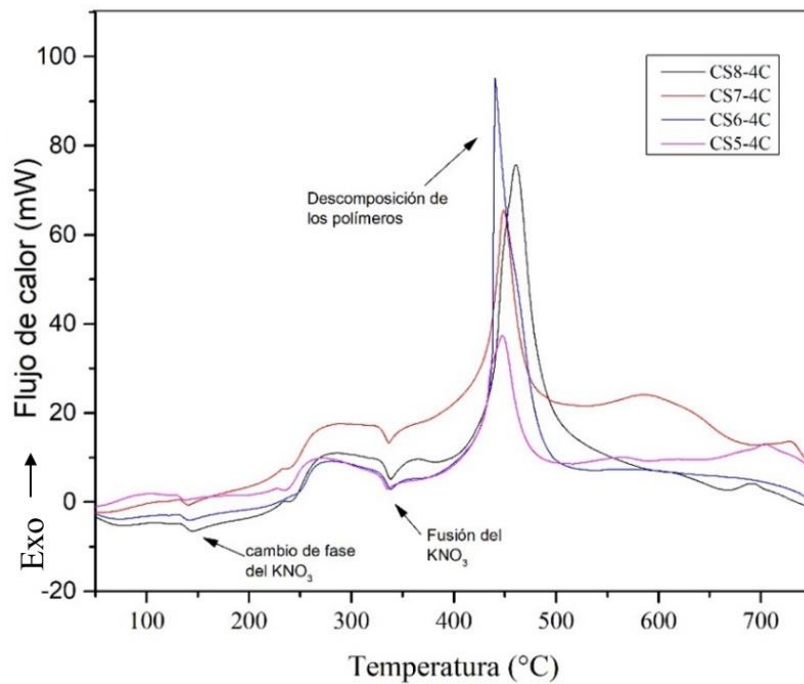
Las curvas DSC correspondientes a las microesferas con carga (Figuras 4.28 y 4.29) mostraron una ligera disminución en el flujo de calor, asociada al cambio de fase cristalina del  $\text{KNO}_3$  de ortorrómbica (fase  $\alpha$ ) a romboédrica (fase  $\beta$ ), si bien este cambio se reporta cerca de los 128 °C, para el  $\text{KNO}_3$  contenido en las microesferas este cambio ocurre entre los 130°C-144°C como se muestra en la Tabla 4.10 [84].

Se apreció un aumento del flujo de calor a partir de los 250 °C y picos endotérmicos menores en un rango que comprendió de los 328 °C a los 350 °C, estos fueron asociados con el punto de fusión del  $\text{KNO}_3$ , este dato resultó ser hasta 10 °C mayor a la temperatura de fusión reportada para el  $\text{KNO}_3$  puro [85, 86].

El comportamiento térmico de las microesferas con carga mostró ser muy similar para todas las muestras, ya que todas mostraron transiciones térmicas en rangos de temperatura similares. Se identificó un pico exotérmico mayor en el rango de 385-500°C que se atribuye a la descomposición de los polímeros. Los puntos medios de estos picos se concentraron en la Tabla 4.10



**Figura 4.28** Curvas DSC de las diferentes microesferas con carga obtenidas a 2 h de entrecruzamiento.



**Figura 4.29** Curvas DSC de las diferentes microesferas con carga obtenidas a 4 h de entrecruzamiento.

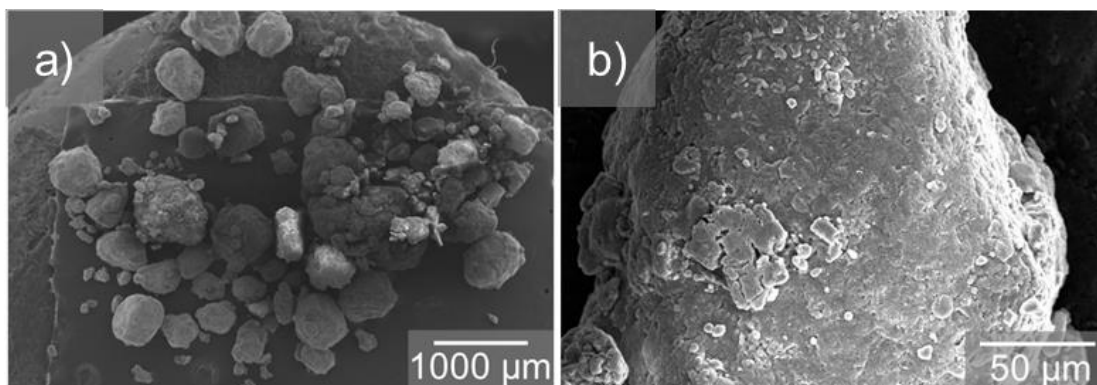
Sin embargo, la energía requerida para llevar a cabo la descomposición polimérica requirió mayor energía para aquellas muestras con mayor densidad de entrecruzamiento: CS8-4C que requirió 1136.2 J/g, CS5-2C con 1073.2 J/g y CS5-2C que presentó una entalpía de transición de 777.7 J/g, así se comprobó la existencia de interacciones iónicas, esta información complementa lo anteriormente discutido, donde por medio de la técnica XRD se encontró que estas muestras también fueron las que presentaron mayor densidad de reticulación al ser analizadas sin carga.

**Tabla 4.10** Transiciones térmicas de las microesferas con carga.

| <b>Muestra</b> | <b>Cambio de Fase (°C)</b> | <b>Pico endotérmico (°C)</b> | <b>Pico exotérmico (°C)</b> | <b>Entalpía de transición (J/g)</b> |
|----------------|----------------------------|------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| CS8-2C         | 131-141                    | 337                          | 451                         | 578                                 |
| CS8-4C         | 131-143                    | 338                          | 460                         | 1136.4                              |
| CS7-2C         | 132-140                    | 336                          | 461                         | 752.3                               |
| CS7-4C         | 132-140                    | 336                          | 448                         | 755.7                               |
| CS6-2C         | 134-142                    | 338                          | 467                         | 741.3                               |
| CS6-4C         | 131-141                    | 338                          | 440                         | 695.6                               |
| CS5-2C         | 138-144                    | 342                          | 468                         | 1073.2                              |
| CS5-4C         | 130-138                    | 335                          | 448                         | 777.8                               |

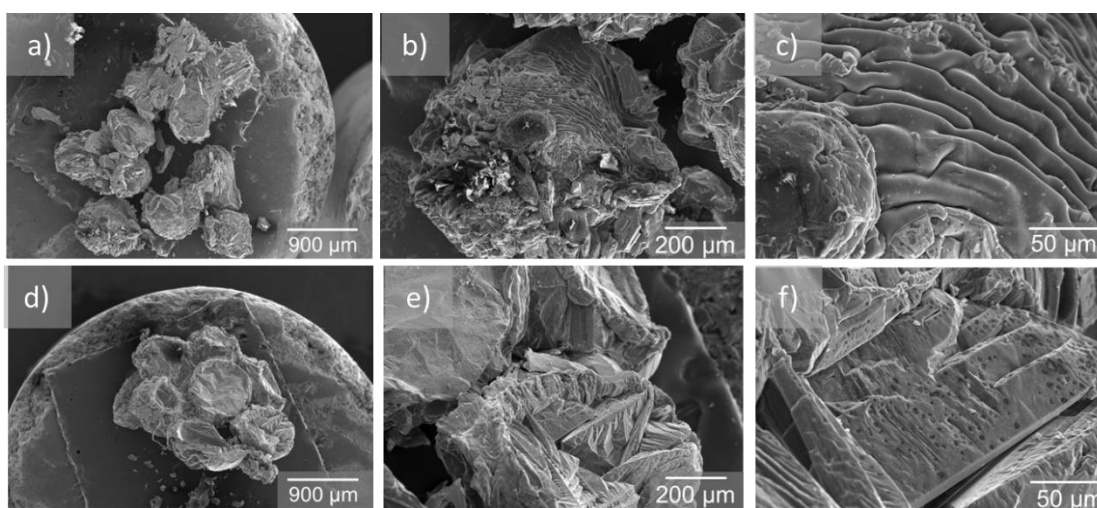
#### **4.2.4 Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

El nitrato de potasio es una sal granulada con aspecto blanquecino ampliamente utilizada en la agricultura como fuente de macroelementos. En la Figura 4.30 se presenta la micrografía del nitrato de potasio a) 20X y b) 500X, en la que se observó que la sal está conformada por gránulos irregulares de tamaños muy variables entre 242 y 690  $\mu\text{m}$ , con una desviación estándar de  $\pm 219.3 \mu\text{m}$ .



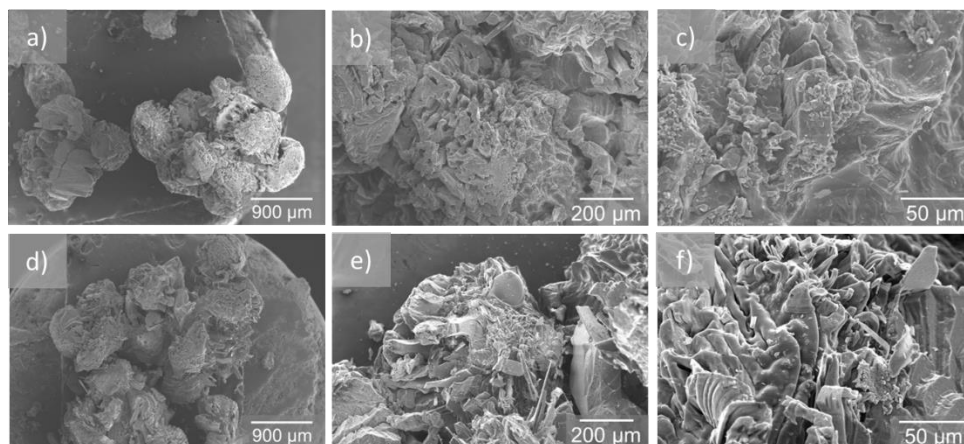
**Figura 4.30** Nitrato de potasio a a) 20X y b) 500X.

En la Figura 4.31 se muestran las micrografías a diferentes magnificaciones de las microesferas con carga obtenidas con proporciones de polímeros CS8/CMC2 a diferentes tiempos de entrecruzamiento. En las imágenes a) y d) se encontró que las microesferas presentan morfología irregular distinta a la morfología esférica que presentaron antes de ser cargadas. También se observó que tanto la muestra CS8-2C como la muestra CS8-4C formaron aglomerados, por lo que no fue posible realizar mediciones de los diámetros de microesferas con carga. En las imágenes b) y c) que corresponden magnificaciones de 100X, se constató la presencia de  $\text{KNO}_3$  en algunas zonas de la superficie de las microesferas. En las imágenes obtenidas con magnificación de 500X se detectó la formación de una capa de  $\text{KNO}_3$  en la superficie de las microesferas.



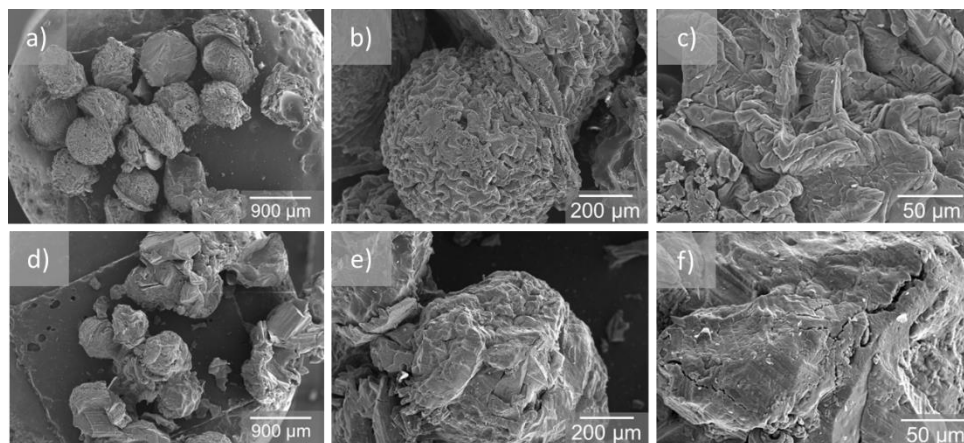
**Figura 4.31** Microesferas de CS8-2C a) 25X, b) 100X, c) 500X y CS8-4C, d) 25X, e) 100X, f) 500X.

Al igual que para las microesferas obtenidas a partir de las proporciones CS8/CMC2, las microesferas CS7/CMC3 a 2 y 4 horas de formación (Figura 4.32) presentaron morfología irregular y aglomerados, sin embargo, mostraron aparentemente una mayor y más homogénea presencia de  $\text{KNO}_3$  en su superficie.



**Figura 4.32** Microesferas CS7-2C a) 25X, b) 100X, c) 500X y CS7-4C, d) 25X, e) 100X, f) 500X.

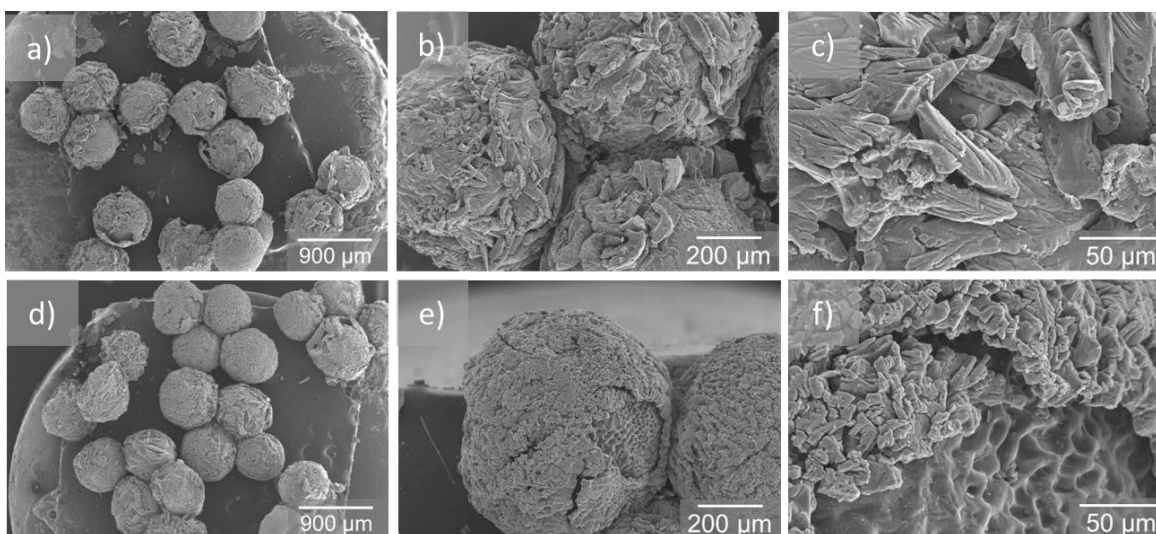
En la Figura 4.33 se muestran las micrografías de las muestras CS6-2C y CS6-4C en las cuales se observó una morfología mayormente irregular. En la imagen d) se observa que la muestra CS6-4C presentó aglomerados, a diferencia de la muestra CS6-2C donde las microesferas permanecieron parcialmente separadas y se pudo observar que algunas conservaron la forma de media esfera con bases aplanadas, en las regiones de la superficie más lisas se encontró una menor presencia de  $\text{KNO}_3$  como se observó en la imagen b).



**Figura 4.33** Microesferas CS6-2C a) 25X, b) 100X, c) 500X y CS6-4C, d) 25X, e) 100X, f) 500X.

Las muestras CS5-2C y CS5-4C presentadas en la Figura 4.34, conservaron la distribución de tamaños más uniforme respecto al resto de las muestras y no presentaron aglomerados, el tamaño promedio de estas microesferas fue de  $696.81\ \mu\text{m}$ , es decir  $81\ \mu\text{m}$  más grandes que el promedio de las microesferas sin carga, el rango de tamaños fue de los  $637.74$  a los  $793.71\ \mu\text{m}$ , por otro lado, para la muestra CS5-4C, el rango de tamaños fue de  $623.47$  a  $785.21\ \mu\text{m}$ , con un promedio de  $678.03\ \mu\text{m}$ , es decir  $69.11\ \mu\text{m}$  mayor respecto a las microesferas sin carga.

En las imágenes e) y f) se encontró una región de la cual se desprendió una lámina de  $\text{KNO}_3$  y se puede observar que debajo de esa capa de agente activo, la superficie de la microesfera es rugosa, lo que sugiere que una parte del agente activo se encuentra ligado a la superficie gracias a la rugosidad que éstas presentan, además de las interacciones electrostáticas presentes entre la sal y los polímeros que conforman la matriz. Adicionalmente, en la imagen e) se realizaron mediciones del espesor de la capa de  $\text{KNO}_3$  sobre la superficie de la microesfera utilizando el software *Nano Measurer 1.2*, de las cuales se obtuvo que el espesor promedio es de  $24.93\ \mu\text{m}$ .



**Figura 4.34** CS5-2C a) 25X, b) 100X, c) 500X y CS5-4C, d) 25X, e) 100X, f) 500X.

#### 4.2.5 Porcentaje de carga

Los promedios de porcentaje de carga mostrados en la Tabla 4.11 representan el porcentaje en peso que corresponde al  $\text{KNO}_3$  en las microesferas. Se observó que las microesferas obtenidas a partir de mezclas de polímeros que incluían más contenido de carboximetilcelulosa (CMC), presentaron menores porcentajes de carga, esto se atribuye al menor espacio entre las cadenas poliméricas disponibles para carga, esta característica también pudo ser comprobada por la técnica XRD para las microesferas sin carga.

Debido a que comercialmente las microesferas deben cumplir con el requisito de que el 40% en peso debe corresponder a la matriz y mínimo el 60% en peso debe corresponder a la carga, se determinó que sólo las muestras CS8-2C, CS8-4C, CS7-2C y CS7-4C cumplen con esta característica.

También se observó que las muestras con mejores promedios de porcentaje de carga fueron aquellas obtenidas con proporciones CS7/CMC3 a 2 y a 4 horas de entrecruzamiento, que presentan porcentajes de carga superiores a los reportados para sistemas quitosano/almidón que se encuentran entre 36-53 % [63]. Adicionalmente, se observó que la desviación estándar para muestras obtenidas a 2 horas fue de  $\pm 5.87$  al  $\pm 8.30\%$  y para aquellas obtenidas a 4 horas de entrecruzamiento de  $\pm 12.02$  a  $\pm 25.83\%$ .

**Tabla 4.11** Porcentaje que representa el  $\text{KNO}_3$  en las microesferas con carga.

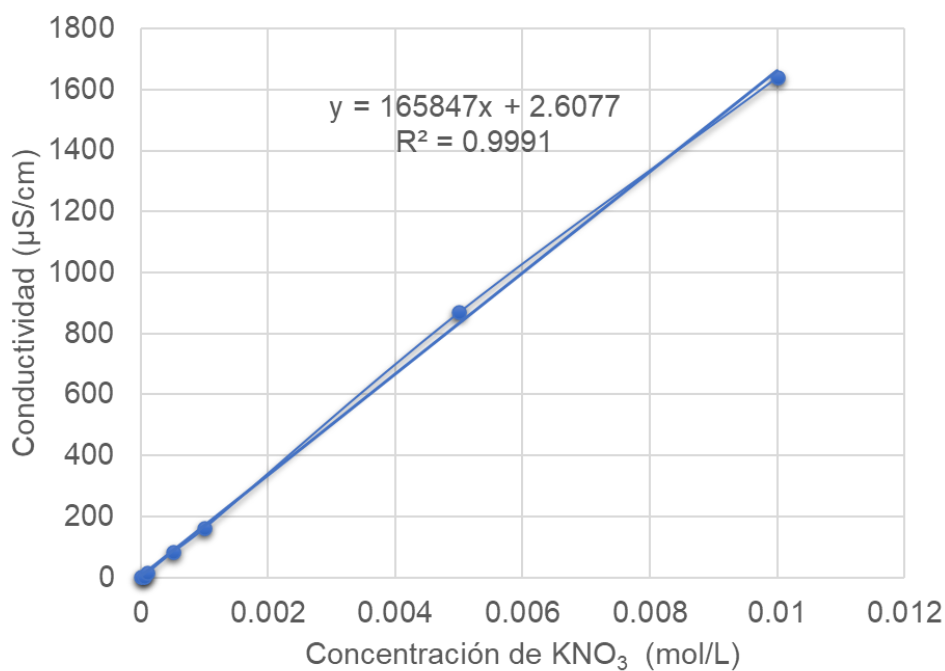
| Muestra | Repetición<br>1 | Repetición<br>2 | Repetición<br>3 | Promedios (%) | Desviación<br>Estándar<br>$\sigma$ |
|---------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------|------------------------------------|
| CS8-2C  | 55.03           | 66.19           | 66.12           | 62.45         | 6.43                               |
| CS8-4C  | 47.61           | 74.11           | 68.75           | 63.49         | 14.01                              |
| CS7-2C  | 60.16           | 76.61           | 68.90           | 68.56         | 8.23                               |
| CS7-4C  | 54.52           | 77.96           | 70.84           | 67.77         | 12.02                              |
| CS6-2C  | 55.02           | 67.55           | 51.85           | 58.14         | 8.30                               |
| CS6-4C  | 49.95           | 77.46           | 40.56           | 55.99         | 19.17                              |
| CS5-2C  | 37.23           | 48.86           | 41.65           | 42.58         | 5.87                               |
| CS5-4C  | 21.746          | 69.45           | 62.77           | 51.32         | 25.83                              |

#### 4.2.6 Ensayos de liberación de agente activo

La curva de calibración para el  $\text{KNO}_3$  que se muestra en la Figura 4.35, se obtuvo a partir de mediciones de conductividad eléctrica que presentaron distintas soluciones de  $\text{KNO}_3$  con concentraciones conocidas. Los datos se ajustaron por mínimos cuadrados, obteniendo así la ecuación que describe la curva, posteriormente se despejó para obtener la ecuación para calcular la concentración:

$$x = \frac{y - 2.6077}{165847} \quad (4.1)$$

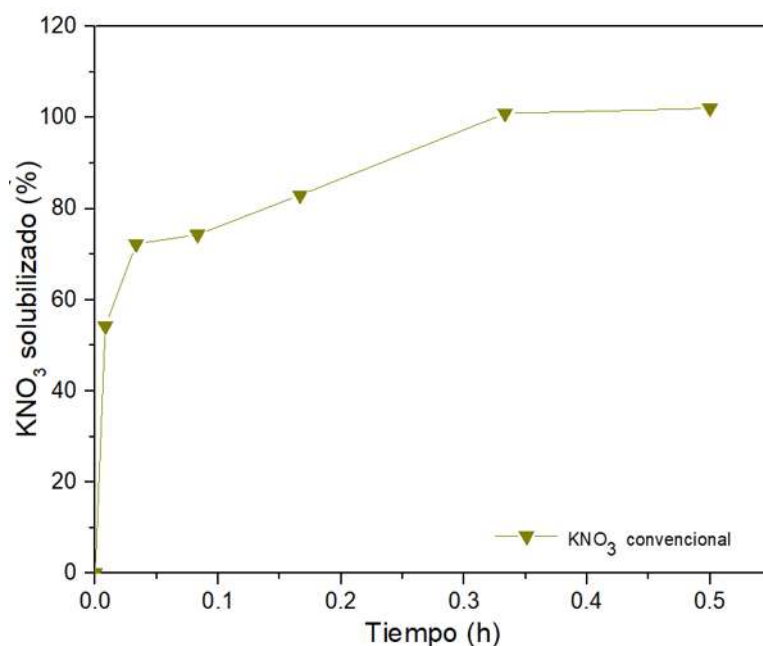
Donde  $y$  es la conductividad eléctrica en  $\mu\text{S}/\text{cm}$  y  $x$  es la concentración en  $\text{mol}/\text{L}$  de  $\text{KNO}_3$  en la solución.



**Figura 4.35** Curva de calibración de conductividad eléctrica a diferentes concentraciones de  $\text{KNO}_3$ .

Se realizó un experimento de referencia donde se midió el porcentaje de  $\text{KNO}_3$  convencional solubilizado respecto al tiempo, y se mostró que esta sal se disuelve totalmente en agua en

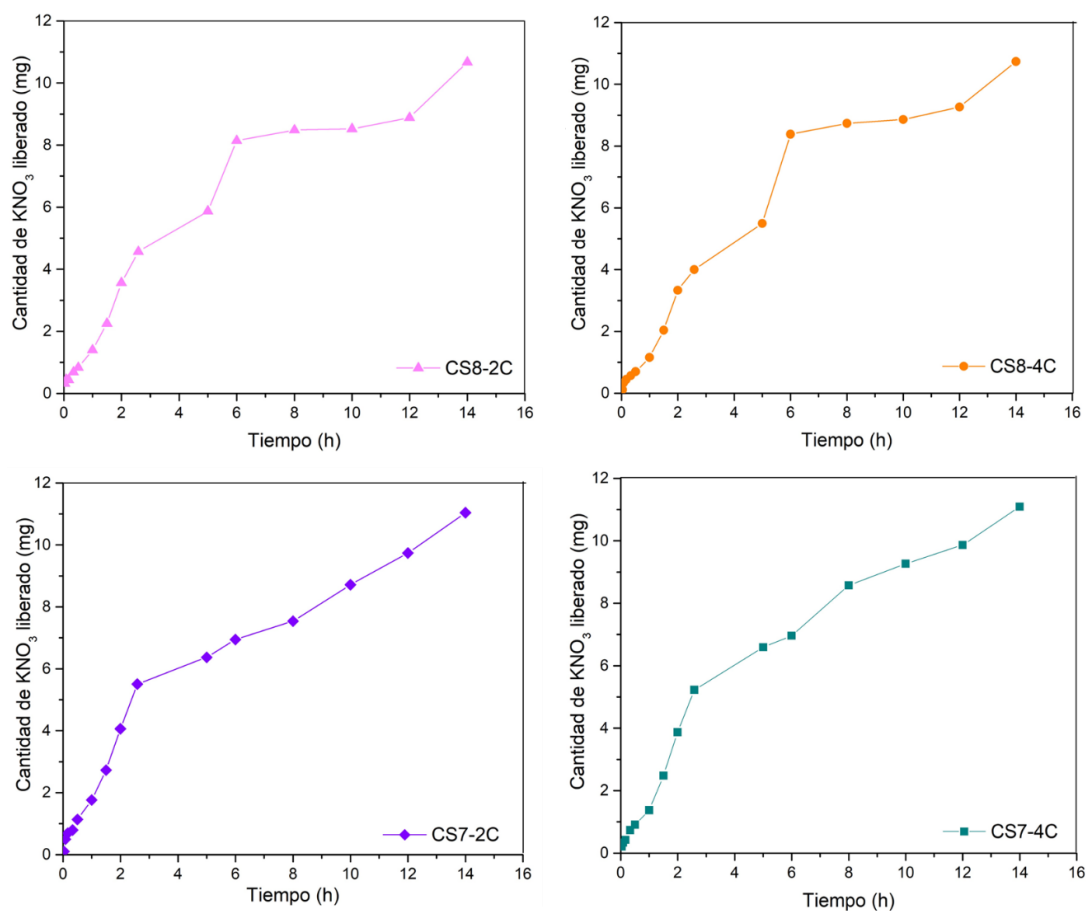
30 min minutos, disolviendo hasta el 84.78% de su peso original en los primeros 10 minutos (Figura 4.36).



**Figura 4.36** Perfil de disolución de KNO<sub>3</sub> en agua desionizada.

En cuanto a las curvas correspondientes a las microesferas con carga, se observó que el tiempo en el que se completó la liberación y solubilización del agente activo, fue igual tanto para las microesferas CS8-2C y CS8-4C como para CS7-2C y CS7-4C, completándose en 840 min.

Con base en los cambios de pendiente más notorios de las curvas de los perfiles de liberación representadas como la concentración acumulada de KNO<sub>3</sub> en función del tiempo (Figura 4.37) se decidió estudiar por etapas el mecanismo de liberación, debido a su complejidad. Se identificaron dos etapas que comprenden de 0-150 min. y de 150-840 min. para las muestras CS7-2C y CS7-4C y tres etapas para las muestras CS8-2C y CS8-4C, en este caso de 0-150 min, de 150-360 min y de 360-840 min. El ajuste a modelos cinéticos de liberación de cada sección de estas curvas se presenta en la Tabla 4.12, donde las unidades de  $K_0$ ,  $K_1$ ,  $K_H$ ,  $K_{KP}$  y  $K_{HC}$  son mg/h. El ajuste a los diferentes modelos cinéticos de liberación se realizó según las diferentes ecuaciones que se describieron en la sección 2.6 de este documento.



**Figura 4.37** Perfiles de liberación de  $\text{KNO}_3$  desde las microesferas.

**Tabla 4.12** Ajuste a modelos cinéticos de liberación del  $\text{KNO}_3$ .

| Muestra | # de curva | Orden 0 |       | Orden 1 |              | Higuchi |              | Korsmeyer - Peppas |       |              | Hixson - Crowell |       |
|---------|------------|---------|-------|---------|--------------|---------|--------------|--------------------|-------|--------------|------------------|-------|
|         |            | $K_0$   | $R^2$ | $K_1$   | $R^2$        | $K_H$   | $R^2$        | $K_{KP}$           | $n$   | $R^2$        | $K_{HC}$         | $R^2$ |
| CS7-2C  | 1          | 0.177   | 0.984 | 1.160   | 0.776        | 0.309   | 0.914        | 1.997              | 1.030 | <b>0.985</b> | 0.427            | 0.923 |
|         | 2          | 0.043   | 0.988 | 0.060   | <b>0.997</b> | 0.232   | 0.952        | 4.149              | 0.332 | 0.933        | 0.040            | 0.996 |
| CS7-4C  | 1          | 0.170   | 0.976 | 1.160   | 0.921        | 0.294   | 0.889        | 0.150              | 1.188 | <b>0.989</b> | 0.428            | 0.978 |
|         | 2          | 0.045   | 0.986 | 0.063   | 0.963        | 0.247   | <b>0.987</b> | 0.285              | 0.466 | 0.985        | 0.042            | 0.973 |
| CS8-2C  | 1          | 0.156   | 0.976 | 1.044   | 0.967        | 0.267   | 0.886        | 0.151              | 1.109 | <b>0.993</b> | 0.389            | 0.992 |
|         | 2          | 0.086   | 0.850 | 0.152   | 0.902        | 0.338   | 0.818        | 0.222              | 0.644 | <b>0.958</b> | 0.092            | 0.885 |
|         | 3          | 0.025   | 0.742 | 0.029   | <b>0.765</b> | 0.153   | 0.697        | -                  | -     | -            | 0.020            | 0.757 |
| CS8-4C  | 1          | 0.142   | 0.975 | 1.191   | 0.867        | 3.659   | 0.894        | 0.131              | 1.140 | <b>0.983</b> | 0.442            | 0.904 |
|         | 2          | 0.104   | 0.830 | 0.195   | <b>0.898</b> | 0.409   | 0.797        | 0.151              | 0.864 | 0.821        | 0.052            | 0.876 |
|         | 3          | 0.024   | 0.815 | 0.028   | <b>0.838</b> | 0.147   | 0.774        | -                  | -     | -            | 0.020            | 0.831 |

Del ajuste de datos a los diferentes modelos cinéticos de liberación, se encontró que para todas las muestras la primera etapa de liberación se ajusta al modelo de Korsmeyer-Peppas con exponentes  $n > 1$ , por lo tanto, el principal mecanismo de transporte que rige esta etapa es un super caso II y el mecanismo de liberación está controlado por la relajación de las cadenas poliméricas (hinchamiento) y la erosión de la matriz que permiten la liberación del  $\text{KNO}_3$  contenido entre la matriz. Sin embargo, a pesar del resultado obtenido por el ajuste a modelos cinéticos, se cree que la capa de  $\text{KNO}_3$  adherida a la superficie de las microesferas, sufre una rápida disolución como en el caso de la sal en su forma convencional y ésta representa un pequeño porcentaje de la carga total de las microesferas ( $<10\%$ ).

La concentración acumulada de  $\text{KNO}_3$  en los primeros 150 minutos representó aproximadamente el 48% de la carga total de este agente activo para las muestras CS7-2C y CS7-4C y aproximadamente el 40% para las muestras CS8-2C y CS8-4C. Mientras que los cambios de concentración registrados a partir de los 150 minutos correspondientes al resto de la liberación indican una liberación más lenta debida a diferentes mecanismos de transporte.

Para la muestra CS7-2C la segunda etapa de liberación presentó un mejor ajuste al modelo de orden 1, donde la tasa de liberación depende de la concentración. Por otro lado, la muestra CS7-4C en su segunda etapa se ajustó mejor al modelo de Higuchi que propone que la difusividad es constante y ya no depende del hinchamiento de la matriz.

La muestra CS8-2C en la etapa de 150-360 min presentó un mejor ajuste al modelo de Korsmeyer-Peppas con un coeficiente  $n = 0.644$  que indica un mecanismo de transporte no Fickiano con mecanismo de liberación influenciado tanto por la difusión como por el hinchamiento y la erosión, hecho que se atribuye al alto grado de entrecruzamiento de esta muestra. Por último, en la etapa de 360-840 min la muestra CS8-2C se ajustó mejor al modelo de orden 1 que indica que en la etapa final el hinchamiento de la matriz ya no interviene y el transporte de masa depende de la concentración.

El modelo de orden 1 resultó ser el que mejor ajustó para la segunda y tercera etapa de liberación del  $\text{KNO}_3$  en la muestra CS8-4C, presentando valores de  $K_1 = 0.195 \text{ mg/h}$  para la segunda etapa y  $K_1 = 0.028 \text{ mg/h}$  para la tercera etapa.

La liberación del  $\text{KNO}_3$  contenido en las muestras obtenidas a 4 horas de entrecruzamiento fue ligeramente mayor, respecto a las que fueron obtenidas a 2 horas a partir de los 150 min. Esto se atribuye a que un mayor grado de entrecruzamiento (mayor amorficidad) produce mayores tasas de liberación y fue posible corroborar por difracción de rayos X que las muestras CS8 presentaron mayor amorficidad que las muestras CS7.

Por otro lado, autores como dos Santos – Pereira y col. [74] obtuvieron microesferas de quitosano/bagazo de caña por el método de inversión de fase y reportaron tiempos de liberación de  $\text{KNO}_3$  en 180 min para un ensayo en agua. França y col. [70] sintetizaron microesferas por el método de spray - dried con un sistema quitosano/montmorillonita/TPP y reportaron la liberación del 100% de la carga de  $\text{KNO}_3$  en un tiempo de 2 h. Pérez - Bravo y col. [63] obtuvieron microesferas de quitosano/TPP/almidón por el método de gelación iónica que tardaron 14 días en liberar todo su contenido de  $\text{KNO}_3$  en un ensayo en medio acuoso, también estudiaron el comportamiento de la cinética de liberación y reportaron que para este sistema el proceso controlante en la liberación del fertilizante fue la relajación de las macromoléculas en la red tridimensional de la matriz polimérica, también llamado Super Caso II. Por último, Rodrigues dos Santos y col. [66] reportaron que para un sistema de quitosano/montmorillonita la liberación de  $\text{KNO}_3$  en condiciones de suelo tarda hasta 55 días e indicaron que en general la liberación en suelo toma periodos de tiempo más largos que la liberación en agua. Por lo tanto, se concluyó que el sistema de CS/CMC puede presentar tiempos de liberación en agua mas prolongados que algunos sistemas a base de quitosano, sin embargo, el sistema reportado por Pérez y col. A base de quitosano/TPP/almidón donde obtuvieron microesferas porosas, demostró tener una liberación más prolongada que las microesferas obtenidas en este estudio.

## 5 CONCLUSIONES

Se prepararon exitosamente microesferas por medio del método de gelación iónica con diferentes concentraciones de quitosano y carboximetilcelulosa, que resultaron en matrices con capacidad de carga de hasta el 68.5% y tiempos de liberación superiores a los tiempos de liberación de  $\text{KNO}_3$  convencional y superiores a algunos de los sistemas poliméricos para la liberación de  $\text{KNO}_3$  previamente reportados.

Por medio del análisis por FTIR se constató que en las microesferas sin carga los grupos funcionales presentes corresponden con aquellos presentes en los polímeros utilizados para la síntesis de las microesferas, así como la formación de enlaces C-N, lo que confirma la formación de enlaces amida, creados por la complejación de los polímeros, creada por la interacción de la diferencia de cargas. Estas uniones generaron entrecruzamiento en las microesferas. También se pudo comprobar la ausencia de TPP en las microesferas, en consecuencia, la interacción iónica se llevó a cabo exclusivamente entre los polímeros CS/CMC. Sin embargo, el TPP actuó como estabilizador en la solución.

Por XRD se encontró que las muestras CS8/CMC2-2 y CS8/CMC2-4 presentaron un mayor grado de entrecruzamiento respecto al resto de las muestras. La muestra CS7/CMC3-2 representó una composición balanceada de polímeros que resultó en un promedio de carga superior al resto de las muestras y tiempos de liberación de 840 minutos.

También por medio de XRD se encontró que las microesferas con carga presentaron picos bien definidos característicos del  $\text{KNO}_3$  con sistema cristalino ortorrómbico que presentaron desplazamientos hacia mayores ángulos debido al traslape con picos característicos de los polímeros.

Por otro lado, las micrografías obtenidas por SEM demostraron que es posible obtener microesferas con diámetros promedio que pueden ir desde los 564  $\mu\text{m}$  a los 696  $\mu\text{m}$ , sin embargo, la desviación estándar mostró que los diámetros pueden presentar un rango de variación amplio (hasta  $\pm 111.9 \mu\text{m}$ ).

En cuanto a las microesferas con carga, fue posible observar por SEM que existe una capa de  $\text{KNO}_3$  de aproximadamente 24.93  $\mu\text{m}$  en la superficie de las muestras, la mayoría de las

muestras formaron aglomerados como producto del proceso de carga y secado, excepto las muestras CS5-2C y CS5-4C.

El análisis de comportamiento térmico demostró que la adición de carga en las microesferas significa un incremento en las temperaturas de descomposición de las muestras. Así mismo, se observó que las transiciones térmicas para las microesferas con carga requieren de más energía para llevarse a cabo, debido a que el  $\text{KNO}_3$  tiene mayor estabilidad térmica que la mezcla de polímeros. También por la técnica TGA/DSC se confirmó la presencia de agua ligada químicamente en las muestras. Basado en la información obtenida sobre el comportamiento térmico de las microesferas de CS/CMC se podrían explorar aplicaciones de este sistema a altas temperaturas.

La capacidad de absorción de agua de las microesferas o porcentaje de hinchamiento está directamente relacionada con el espacio disponible entre las cadenas poliméricas que conforman las microesferas, lo que a su vez depende de la densidad de entrecruzamiento, que como pudo observarse en los análisis por XRD y los estudios de porcentaje de hinchamiento, las muestras CS8-2C, CS8-4C y CS7-2C fueron las que presentaron mayor porcentaje de hinchamiento, y por lo tanto también presentaron los mayores porcentajes de carga de agente activo.

Respecto al tiempo de liberación, se confirmó que la carga de  $\text{KNO}_3$  en microesferas de CS/CMC produce un efecto de liberación lenta que se extiende hasta 840 minutos respecto al tiempo de solubilización convencional del  $\text{KNO}_3$  que se completa en tan solo 30 minutos. Aunque las muestras CS8-2C, CS8-4C, CS7-2C y CS7-4C liberaron el 100% de su contenido en el mismo periodo de tiempo, el principal mecanismo de liberación para las cuatro muestras fue el de erosión e hinchamiento de la matriz, responsable de la liberación en la primera etapa, y para la segunda y tercera etapa los mecanismos fueron distintos para cada muestra.

Con base en los resultados obtenidos se concluyó que las microesferas de quitosano/carboximetilcelulosa obtenidas mediante el método de gelación iónica representan una opción con potencial para liberación controlada de  $\text{KNO}_3$  y posiblemente otros agentes activos para aplicaciones en la agricultura, sin embargo es necesario realizar ensayos de liberación en condiciones de suelo para recabar más información sobre los tiempos de liberación y verificar los efectos de la liberación lenta en plantas.



## RECOMENDACIONES Y TRABAJO FUTURO

Se recomienda probar con concentraciones más bajas para las soluciones poliméricas para obtener microesferas con mayor porosidad, una mayor porosidad en las microesferas puede significar la posibilidad de un mayor porcentaje de carga de agente activo. Un mayor porcentaje de carga también puede significar encontrar formulaciones de diferentes proporciones de polímeros que cumplan con el requerimiento mínimo del 60% de carga con el que deben cumplir los fertilizantes de liberación lenta.

También se recomienda realizar esquemas experimentales con la variable de tiempo fijada a 2 horas, pues este periodo es suficiente para obtener microesferas con tamaños en el rango de los micrómetros y un periodo más largo de entrecruzamiento significa una menor aceptación de carga. Adicionalmente, se recomienda verificar por medio de distintas técnicas de caracterización la presencia de  $\text{KNO}_3$  en niveles mas interiores de las microesferas.

Se sugiere crear un sistema que permita completar el goteo de la solución polimérica sobre la solución reticulante en un corto periodo de tiempo, pues esto podría reducir la desviación estándar elevada del diámetro promedio que han presentado las microesferas. Adicionalmente, se recomienda utilizar una porción menor de tripolifosfato ya que se demostró que el polímero polianiónico es el responsable del entrecruzamiento, mientras que la sal de TPP solo actúa como estabilizador y posiblemente pueda cumplir esta función con menores porciones. Así mismo, se recomienda estudiar la cinética de hinchamiento de las microesferas sin carga. También es posible probar otras combinaciones de polímeros con carácter polianiónico tales como el xantato, almidones, ácido hialurónico, carragenina, alginatos, etc.

Como trabajo futuro, se realizarán ensayos semi *in-vitro* donde se colocarán las muestras de microesferas con carga que resultaron aptas para su aplicación como sistemas de liberación lenta de  $\text{KNO}_3$ , y se estudiará la cinética de liberación en suelo.

## REFERENCIAS

- [1] Rajan M, Shaena S, Chandra V, Mathew L, *Controlled release of fertilizers – concepts, reality, and mechanism. Controlled release Fertilizers for Sustainable Agriculture*, 3, 41, 2021.
- [2] Azeem B, KuShaari K Thanh T H., *Review on materials & methods to produce controlled release coated urea fertilizer. Journal of Controlled Release*, 181, 11-2, 2014.
- [3] Zargar V, Asghari M, Dashti A, *A Review on Chitin and Chitosan Polymers: Structure, Chemistry, Solubility, Derivatives, and Applications. ChemBioEng Reviews*.2(3), 204–226, 2015.
- [4] Shaviv A & Mikkelsen R L. *Controlled-release fertilizers to increase efficiency of nutrient use and minimize environmental degradation - A review, Fertilizer Research.*, 35(1–2),1–12, 1993.
- [5] Mujtaba M, Khawar K M, Candido Camara M, Braganca Carvalho L, Fernandes Fraceto L, Morsi R E, Elsabee M Z, Kaya M, Labidi J, Ullah H, Wang D. Chitosan-based delivery systems for plants: A brief overview of recent advances and future directions. **International Journal of Biological Macromolecules**. 154. 683–697, 2020.
- [6] Fan W, Yan W, Xu Z, Ni H, Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique. **Colloids Surfaces B: Biointerfaces**. 90(1). 21–27, 2012.
- [7] FAO. *World food situation*. [en línea] disponible en: <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/en/> [consultado 20 de marzo 2021].
- [8] INEGI. *Censo Agrícola, Ganadero y Forestal. Censos y conteos*, 1–13. 2020.
- [9] The nitrate elimination company, Inc. *The dangers of nitrate-contaminated water* [en línea] disponible en: <https://www.nitrate.com/dangers-nitrate-contaminated-water> [consultado 20 marzo de 2021]
- [10] FAO. *World fertilizer trends and outlook to 2020*. En: **Food and Agriculture Organization of United Nations**. Rome. 2017.
- [11] Milani P, França D, Balieiro AG, Faez R: *Polymers and its applications in agriculture. Polímeros*, 27(1), 256-266. 2017.

- [12] Ramankutty N, Evan A. T, Monfreda C, Foley J. A., *Farming the planet: 1. Geographic distribution of global agricultural lands in the year 2000*. **Global Biogeochemical Cycles**, 22 (1), 2008.
- [13] Bose B, Mondal S. Climate change and sustainable agriculture in context to seed priming and role of nitrate. **International Journal of Plant Research**. 26, 192–204, 2013.
- [14] Saray G. Inseguridad alimentaria: Debates y propuestas para su superación. Sello Editorial Universidad de Caldas. 2019.
- [15] Brevik E. Steffan J J. Burgess L C, Cerda A. Soils and human health—an overview. **European journal of soils science**. 69 (1), 29–56, 2013.
- [16] OECD/FAO, OECD-FAO Perspectivas Agrícolas 2020-2029. 2020.
- [17] FAO. State of Food and Agriculture: [en línea] disponible en: <http://www.fao.org/documents/card/es/c/cb1447en/> [consultado 20 de marzo 2021]
- [18] FAO. Agriculture and the environment: changing pressures, solutions and trade-offs. En ; **World Agriculture : Toward 2015/2030**. 331–356. 2003.
- [19] FAO. Riesgos ambientales relacionados con la agricultura convencional. [en línea]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/y5871s/y5871s0p.htm> [consultado 21 de marzo de 2021]
- [20] Cabral-Pinto M. M., Neves M, Almeida O, Pinto A, Oliveiros E, Human Health Risk Assessment Due to Agricultural Activities and Crop Consumption in the Surroundings of an Industrial Area. **Exposure and Health**, 12(4), 629–640, 2020.
- [21] Lallana V.H, Fisiología Vegetal. Primera ed. Paraná. 2014.
- [22] Royal Society of Chemistry. **Plant Structure and Function**. Glencoe Biology, Student Ed., 630, 80–90, 2008.
- [23] Rehm G. Movement of Nutrients from Soil to Plants. [en línea] Disponible en: <https://agwaterexchange.com/2016/09/20/movement-of-nutrients-from-soil-to-plants/> [consultado 21 de marzo 2021]
- [24] Croda Crop Care. Micronutrientes [en línea] Disponible en: <https://www.crodacropcare.com/es-mx/discovery-zone/market-areas/micronutrients> [consultado 23 marzo de 2021]

- [25] Ryu I A. Los macronutrientes y micronutrientes necesarios para el crecimiento de las plantas. [en línea] Disponible en: de <https://actualizandocambios.blogspot.com/2014/04/los-macronutrientes-y-micronutrientes.html> [consultado 23 de marzo 2021]
- [26] Bennett W F. Nutrient Deficiencies & Toxicities in Crop Plants. APS Press. 1993.
- [27] Morgan J B, Connolly E. L. Plant-Soil Interactions: Nutrient Uptake. **Nature Education Knowledge** 4(8), 2, 2013.
- [28] Schwartzkopff C. Potassium, calcium, magnesium-how they relate to plant growth. **Usga Green Section Record**, 1-2, 1972.
- [29] Heffer P. Short-term fertilizer Outlook 2015-2019, En: **Anual conference, 83th**, istanbul, Turkey. 2015.
- [30] Trenkel M. E. Slow- and controlled-release and stabilized fertilizers: an option for enhancing nutrient use efficiency in agriculture. **IFA, International fertilizer industry Association**, 34-36, 2010.
- [31] Shaviv A, Evaluation and modeling of the impact of environmentally friendly fertilization techniques. **Water resources quality**. 3-15, 2002
- [32] Shaviv A. Advances in controlled-release fertilizers. **Advances in Agronomy**. 71, 1–49, 2001.
- [33] National Center for Biotechnology Information. Compound Summary for CID 24434, Potassium nitrate. **PubChem**, 2021.
- [34] Ege S N. In organic chemistry structure and reactivity. 3rd ed. Michigan - Reverté. 2003.
- [35] Seymour R B. Introducción a la Química de los Polímeros. 2 ed. Mexico – Reverté. 2002.
- [36] Zapata D, Pujol R, Coda F. Polímeros biodegradables: una alternativa de futuro a la sostenibilidad del medio ambiente. **Técnica Industrial**, 297(1), 76–80. 2012.
- [37] Olatunji O. Natural polymers: Industry techniques and applications. En: **Natural Polymers**. In Tech.1–370. 2015.
- [38] Hermida É. Polímeros. 1° ed. Buenos Aires. 2011.
- [39] Ouellette R J, Rawn J D. Synthetic polymer. **Chemical and Engineering News**, 79(31), 16, 2001.

- [40] Hack B, Egger H, Uhlemann J, Henriët M, Wirth W, Vermeer AWP, Duff DG: Advanced Agrochemical Formulations through Encapsulation Strategies. **Chemie Ingenieur Technik**. 84(3), 223-234. 2012.
- [41] Beaney P, Lizardi-Mendoza J, Healy M. Comparison of chitins produced by chemical and bioprocessing methods. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**. 80(2), 145–150, 2005.
- [42] Şenel S, Aksoy E A, Akca G. Application of Chitosan Based Scaffolds for Drug Delivery and Tissue Engineering in Dentistry. En; **Marine-Derived Biomaterials for Tissue Engineering Applications**. Ankara, Turkey. InTech.157–178. 2019.
- [43] Szymańska E & Winnicka K. Stability of chitosan - A challenge for pharmaceutical and biomedical applications. **Marine Drugs**. 13(4), 1819–1846, 2015.
- [44] Mucha M, Pawlak A. Complex study on chitosan degradability. **Polymer**. 47, 43–51, 2002.
- [45] Roy J C, Ferri A, Giraud S, Jinping G, Salaün F. Chitosan–carboxymethylcellulose-based polyelectrolyte complexation and microcapsule shell formulation, **International Journal of Molecular Sciences**. 19(9), 2018.
- [46] Scheffer G, Berdugo-Clavijo C, Sen A, Gieg L M. Enzyme biotechnology development for treating polymers in hydraulic fracturing operations. **Microbial Biotechnology**. 14(3), 953–966, 2021.
- [47] Jafari S M, Assadpoor E, He Y, and Bhandari B. Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. **Drying Technology**. 26, 816–835, 2008.
- [48] Sáez V, Hernáez E, Sanz-Angulo L, and Katime I, Liberación Controlada De Fármacos. Micropartículas, **Revista Iberoamericana de Polímeros**, 5(2), 87–101, 2004.
- [49] Hernández-Torres C, Iliina A, Ventura-Sobrevilla J M, Belmares-Cerda R E, Contreras-Esquivel J C, Álvarez G M, Martínez- Hernández J L. La microencapsulación de bioactivos para su aplicación en la industria. **ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar**. 50 (1), 12-19, 2016.
- [50] Grenha A. Chitosan nanoparticles: A survey of preparation methods. **Journal of Drug Targeting**. 20(4). 291–300, 2012.

- [51] Ramos D, Gómez M, Fernández D, and Núñez L. Microesferas biodegradables de liberación controlada para administración parenteral. **Revista cubana de Farmacéutica**. 34(1), 70-7, 2000.
- [52] Yin Y, Yang Y, Xu H. Swelling behavior of hydrogels for colon-site drug delivery. **Journal of Applied Polymer Science**. (13), 2835–2842, 2002.
- [53] Malekjani N, Jafari, S M, Modeling the release of food bioactive ingredients from carriers/nanocarriers by the empirical, semiempirical, and mechanistic models. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 20, 1, 3–47, 2021.
- [54] Mayer H. Nutrient Release Patterns of Controlled Release Fertilizers Used in in the ornamental horticulture industry of south Florida. **Ph.D. thesis**. University of Florida. USA, 2010.
- [55] Lozano-Rivas W A. Suelos, En: **Informe de la Situación del Medio Ambiente en México**. In Tech. 120-154, 2018.
- [56] Gouda R, Baishya H, Qing Z. Application of mathematical models in drug release kinetics of Carbidopa and Levodopa ER Tablets. **Journal of Developing Drugs**, 6(2), 1-8, 2017.
- [57] Neamtu C, Popescu M, Leaching and in vitro agrochemical screening for new slow-release fertilizers containing N, P, Ca, and Mg. **Academic Research Journals of Agricultural Science and Research**. 3(3). 45–53. 2015.
- [58] Dortunç, B, Preparation and in vitro evaluation of Eudragit microspheres containing acetazolamide. **International Journal of Pharmaceutics**. 269, 131 - 140, 2004.
- [59] Singh, M, Review: in-vitro drug release characterization models. **International Journal of Pharmaceutical Studies and Research**. 2(1), 77-84, 2011.
- [60] Doadrio V A, Vallet R. Liberación de fármacos en matrices biocerámicas. Monografía XIX. Avances y perspectivas. Instituto de España. **Real Academia Nacional de Farmacia**. 10, 2009.
- [61] Ravelli, V, Rossi R. Prolonged release formulation technology. **Pharm. Manufact. Int**. 171-172, 1995.
- [62] Uyanga K A, Daoud W A, Green and sustainable carboxymethyl cellulose-chitosan composite hydrogels: Effect of crosslinker on microstructure. **Cellulose**, 28(9), 5493–5512, 2021.

- [63] Pérez J J, Francois N J, Chitosan-starch beads prepared by ionotropic gelation as potential matrices for controlled release of fertilizers. **Carbohydrated Polymers**.148, 134–142, 2016.
- [64] Silva M dos S, Cocenza D S, Grillo, R, Ferreira S N, Tonello P S, Camargo L, Lopes C, Rosas A H, Fernades L. Paraquat-loaded alginate/chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and soil sorption studies. **Journal of Hazardous Materials.**, 190. 1–3, 366–374, 2011.
- [65] Grillo R, Pereira A, Nishisaka C S, Lima R, Oehlke K, Greiner R, Fraceto L. Chitosan/tripolyphosphate nanoparticles loaded with paraquat herbicide: An environmentally safer alternative for weed control, **Journal of Hazardous Materials**. 278, 163–171, 2014.
- [66] Rodrigues Dos Santos B, Britti Bacalhau F, Dos Santos Pereira T, Fonseca Souza C, Faez R. Chitosan-montmorillonite microspheres: A sustainable fertilizer delivery system. **Carbohydrated Polymers**. 127, 340–346. 2015.
- [67] Rodrigues Maruyama C, Guilger M, Pascoli M, Bileshy-José N, Abhilash P C, Fernandes Fraceto L, De Lima R, Nanoparticles Based on Chitosan as Carriers for the Combined Herbicides Imazapic and Imazapyr. **Scientific Reports**. 6(1). 2016.
- [68] Deshpande P, Dapkekar A, Oak M D, Paknikar K M, Rajwade J M. Zinc complexed chitosan/TPP nanoparticles: A promising micronutrient nanocarrier suited for foliar application. **Carbohydrated Polymers**.165. 394–401, 2017.
- [69] Roy J C, Ferri A, Salaün F, Giraud S, Chen G, and Jinping G, Chitosan-carboxymethylcellulose based microcapsules formulation for controlled release of active ingredients from cosmeo textile, **IOP Conference Series Materials Science and Engineering**. 254(7). 2017.
- [70] França D, Medina Â F, Messa L L, Souza C F, Faez R. Chitosan spray-dried microcapsule and microsphere as fertilizer host for swellable – controlled release materials, **Carbohydrated Polymers.**, 196. 47–55. 2018.
- [71] Quadrado R F N & Fajardo A R, Microparticles based on carboxymethyl starch/chitosan polyelectrolyte complex as vehicles for drug delivery systems, **Arabic Journal of Chemistry**. 13(1), 2183–2194, 2020.

- [72] Rashidipour M, Maleki A, Kordi S, Birjandi, M, Pajouhi N, Mohammadi E, Heydari R, Rezaee R, Rasoulia B, Davari B, Pectin/Chitosan/Tripolyphosphate Nanoparticles: Efficient Carriers for Reducing Soil Sorption, Cytotoxicity, and Mutagenicity of Paraquat and Enhancing Its Herbicide Activity. **Journal of Agriculture, Food and Chemistry**. 67. 5736–5745. 2019.
- [73] Sánchez-Andica M, Páez-Melo I, Sánchez-Domínguez M. Preparation and characterization of a controlled-release formulation based on carbofuran loaded in ionically cross-linked chitosan microparticles. **Journal of Polymers Research**. 27(11). 2020.
- [74] Dos Santos P T, França D, Souza C F & Faez R. Chitosan-Sugarcane Bagasse Microspheres as Fertilizer Delivery: On/Off Water Availability System. **Journal of Polymers and the Environment**, 28(11), 2977–2987, 2020
- [75] Ma H, Zhao Y, Lu Z, Xing R, Yao X, Jin Z, Wang Y, & Yu F. Citral-loaded chitosan/carboxymethyl cellulose copolymer hydrogel microspheres with improved antimicrobial effects for plant protection. **International Journal of Biological Macromolecules**, 164, 986–993. 2020.
- [76] Rani S, Nadendla T, Bardhan S R, Madhuprakash K, Chitosan conjugates, microspheres, and nanoparticles with potential agrochemical activity. **Agrochemicals Detection, Treatment and Remediation**, 437–464, 2020.
- [77] Tomaz A F, de Carvalho S M S, Barbosa R C, Silva S M, Gutierrez M A S, de Lima A G B, & Fook M V L. Ionically crosslinked chitosan membranes used as drug carriers for cancer therapy application. **Materials**, 11(10), 2018.
- [78] Libretexts. "13.1.16: How to Interpret An Infrared Spectrum". Chemistry LibreTexts. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic\\_Chemistry/Map:\\_Organic\\_Chemistry\\_\(Bruice\)/13:\\_Mass\\_Spectrometry\\_Infrared\\_Spectroscopy\\_and\\_Ultraviolet\\_Visible\\_Spectroscopy/13.1.16:\\_How\\_to\\_Interpret\\_An\\_Infrared\\_Spectrum](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Map:_Organic_Chemistry_(Bruice)/13:_Mass_Spectrometry_Infrared_Spectroscopy_and_Ultraviolet_Visible_Spectroscopy/13.1.16:_How_to_Interpret_An_Infrared_Spectrum) (accedido el 20 de mayo de 2022).
- [79] El-Sakhawy M, Salama A, Sarhan H-A. Preparation and infrared study of cellulose based amphiphilic materials. **Cellulose Chemistry and Technology**, 52(3), 193-200, 2018.

- [80] de Britto D, Assis O B G. Thermal degradation of carboxymethylcellulose in different salty forms. **Thermochimica Acta**, 494,115–122, 2009.
- [81] Zhao Q, Qian J, An Q, Gao C, Gui Z, & Jin H. Synthesis and characterization of soluble chitosan/sodium carboxymethyl cellulose polyelectrolyte complexes and the pervaporation dehydration of their homogeneous membranes. **Journal of Membrane Science**, 333(1–2), 68–78. 2009.
- [82] Nimmo J K, lucas B W. Conformation and Orientation of NO<sub>3</sub> in  $\alpha$ -Phase Potassium Nitrate. **Nature Physical Science.**, 273, 61-63, 1972.
- [83] Li C, Yan N, Ye Y, Lv Z, He X, Huang J, Zhang N. Thermal analysis and stability of boron/potassium nitrate pyrotechnic composition at 180 °C. **Applied Sciences (Switzerland)**, 9(17), 2019.
- [84] Pawlak A, Mucha M. Thermogravimetric and FTIR studies of chitosan blends. **In Thermochimica Acta** (396), 153–166, 2003.
- [85] Sobitharaj J V. Optical and Mechanical Studies of Potassium Nitrate. **Journal of Emerging Technologies and Innovative Research**, 6 (1), 2019.
- [86] Wolf S, Alam N, Feldmann C.  $\delta$ -KNO<sub>3</sub>: Synthesis and structure of a new modification of potassium nitrate. **Zeitschrift Fur Anorganische Und Allgemeine Chemie**, 641(2), 383–387, 2015.