



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

SÍNTESIS Y EVALUACIÓN DE HIDROGELES CON PROPIEDADES DE
MICROEXTRACCIÓN Y DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE PESTICIDAS
CARBAMATOS EN SOLUCIONES ACUOSAS.

PROYECTO DE MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA

ALUMNO: JORDÁN SANDOVAL BARRERA

PROFESOR GUÍA: DR. ADOLFO MARICAN RIQUELME

TALCA-CHILE

2019

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2019

INDICE DE CAPITULOS Y SECCIONES

1. Resumen.	7
2. Introducción.	8-9
3. Revisión bibliográfica.	10-19
3.1 Pesticidas.	10-14
3.2 Hidrogeles.	14-19
4. Objetivos.	20
4.1 Objetivo general.	20
4.2 Objetivos específicos.	20
5. Materiales y metodos.	21-27
5.1 Materiales.	21
5.2 Metodos.	22-27
5.2.1 Síntesis de micropartículas de alginato de calcio recubiertas de quitosán (CCCA) y complejos de quitosano-alginato de calcio (CCAC).	22
5.2.2 Síntesis de hidrogeles basados en polímeros de polivinil alcohol-ácido malico (PVA-MA), a diferentes proporciones de reticulante.	23

INDICE DE CAPITULOS Y SECCIONES

5.2.3 Preparación de estándares de metomilo y carbofurano.	23-24
5.2.4 Procedimiento de ensayos experimentales.	24
5.2.5 Desarrollo de método cromatográfico para la separación y detección de carbofurano y metomilo.	25
5.2.6 Correlación estadística de los datos recopilados para obtener las condiciones experimentales óptimas para la extracción y desorción, en modo discontinuo, en términos de tiempo de contacto, dosis de compuesto, pH y porcentaje de recuperación.	26-27
6. Resultados.	28-38
6.1 Determinación cuantitativa de Metomilo al usar como hidrogel PVA-MA.	28-29
6.2 Determinación cuantitativa de Carbofurano al usar como hidrogel PVA-MA.	30-31
6.3 Determinación cuantitativa de Metomilo al usar como hidrogel Quitosano.	31-33

INDICE DE CAPITULOS Y SECCIONES

6.4 Determinación cuantitativa de carbofurano al usar como hidrogel quitosano.	33-35
6.5 Analisis del proceso de desorción de metomilo, al usar hidrogel Quitosano.	35-36
6.6 Analisis del proceso de desorción de Carbofurano, al usar hidrogel Quitosano.	37-38
7. Discusión	39-41
8. Conclusiones	42
9. Bibliografía	43-46

INDICE DE FIGURAS

Figura1: Estructura quimica carbamatos.	14
Figura2: Estructura quimica del Quitosano.	17
Figura 3: Estructura quimica del PVA.	19
Figura 4: Porcentaje de recuperabilidad de metomilo al utilizar el hidrogel PVA-MA.	29
Figura 5: Porcentaje de recuperabilidad de carbofunaro al utilizar el hidrogel PVA-MA.	31
Figura 6: Porcentaje de recuperabilidad de metomilo al utilizar el hidrogel quitosano.	33
Figura 7: Porcentaje de recuperabilidad de carbofunaro al utilizar el hidrogel Quitosano.	35
Figura 8: Gráfico de Pareto estandarizado para la liberación de Metomilo y Superficie de respuesta estimada.	35
Figura 9: Gráfico de Pareto estandarizado para la liberación de Carbofurano y Superficie de respuesta estimada.	37

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Valores codificados, para las condiciones experimentales óptimas en los procesos de extracción y desorción.	27
Tabla 2: Analisis cuantitativo de metomilo al usar hidrogel PVA-MA.	28-29
Tabla 3: Analisis cuantitativo de carbofurano al usar hidrogel PVA-MA.	30-31
Tabla 4: Analisis cuantitativo de metomilo al usar hidrogel Quitosano.	32
Tabla 5: Analisis cuantitativo de Carbofurano al usar hidrogel Quitosano.	34

1. RESUMEN

El uso de pesticidas en la agricultura ayuda a incrementar el rendimiento de los cultivos, para cumplir con las demandas de la creciente población humana. Sin embargo, la aplicación continua puede causar anomalías crónicas en humanos, y destruir el medio ambiente y la biodiversidad. En nuestro país, existen varios pesticidas en uso, dentro de los cuales, los de interés en el presente estudio son los carbamatos. Debido a su gran toxicidad, en términos de sus efectos en la salud humana, por exposición aguda o crónica, el muestreo en personas que presentan algún síntoma de envenenamiento es crucial para un diagnóstico oportuno.

Este estudio describe la síntesis y la evaluación de hidrogeles (PVA:MA y quitosano), para la absorción de pesticidas carbamatos (metomilo y carbofurano) desde soluciones acuosas. Se evaluarán ambos hidrogeles a distintas proporciones (10%, 20% y 30%) de reticulado.

Los resultados de este proyecto de investigación proporcionarán una solución rápida, eficiente y barata para el tratamiento de la muestra en la determinación de pesticidas tóxicos en soluciones acuosas. Las ventajas se encuentran en los materiales propuestos que tienen varias características como alta insolubilidad, facilidad de manejo, de preparación y separación de la solución de prueba.

2. INTRODUCCIÓN

El uso de pesticidas en la agricultura contribuye a mejorar el rendimiento de los cultivos, para cumplir con las demandas de la creciente población humana. Sin embargo, la aplicación continua puede generar anomalías crónicas en humanos, y destruir el medio ambiente y la biodiversidad (1).

En nuestro país, existen varios pesticidas en uso, dentro de los cuales, los más utilizados son carbamatos y organofosforados. Dentro de este grupo están el Carbofurano, Metomilo, Dimetoato y Metamidofos. Estos poseen gran toxicidad en términos de sus efectos en la salud humana, debido a la exposición aguda o crónica en que se encuentre el paciente, el muestreo en personas que presentan algún síntoma de envenenamiento es crucial para un diagnóstico oportuno (2).

La preparación de la muestra comienza con la mejora de la selectividad y la sensibilidad de los análisis. Por lo tanto, la preparación de la muestra es de gran importancia para poder obtener el o los analitos de interés, y así poder entregar resultados confiables y precisos. (3) Existen varias formas de extraer y preconcentrar analitos de muestras acuosas para su posterior análisis por HPLC o GC (4).

El compuesto polimérico que se utilice debe poder trabajar en un amplio rango de pH, ser insoluble en agua, ser resistente a la agitación mecánica y con la posibilidad de ser reutilizado (5). El objetivo de este proyecto es sintetizar y evaluar la eficiencia de nuevos materiales insolubles basados en hidrogeles como una viable fase de sorción para extraer y preconcentrar carbofurano y metomilo desde soluciones acuosas, y su posterior desorción para su análisis mediante cromatografía. Para lograr este objetivo, se utilizarán materiales a base de polímeros naturales y sintéticos. Más específicamente, se ensayará un conjunto de compuestos sintetizados utilizando polielectrolito complejo formado por quitosano y alginato de calcio, e hidrogeles basados en alcohol de polivinilo (PVA) con ácido málico (MA) a diferentes proporciones de PVA: MA (6).

Los resultados de este proyecto de investigación van a proveer una solución rápida, eficiente y barata para el procedimiento de la muestras en la determinación de pesticidas tóxicos en soluciones acuosas.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 Pesticidas

Los pesticidas son compuestos ampliamente utilizados en la agricultura, la silvicultura, parques, sitios industriales, campos deportivos, centros educativos, etc (7, 8). Se utilizan para el manejo del césped, control de vegetación industrial, y las acciones de salud pública (control de roedores e insectos que pueden actuar como vectores). Su modo de funcionamiento es la repulsión, la prevención, mitigación, o la destrucción de las malas hierbas y / o plagas. Sobre la base de su propósito, los pesticidas se pueden clasificar en insecticidas, herbicidas, bactericidas, fungicidas, acaricidas, molusquicidas, nematocidas, conservantes de madera, y rodenticidas (9). Dependiendo de la estructura química de pesticidas, que se pueden clasificar en los organoclorados, organofosforados, carbamatos, clorofenoles, y sintéticos piretroides (10, 11). Contaminantes entran al medio ambiente directamente, como resultado de accidentes tales como los derrames durante el transporte, la percolación de los sitios de eliminación, el almacenamiento, o de las instalaciones industriales (12). Cuando los plaguicidas se aplican a los cultivos, que pueden llegar al suelo a través de la lluvia, el agua de riego, y el viento. Además varios plaguicidas son compuestos obicuos, que persisten en el suelo y los sedimentos debido a la menor biodisponibilidad (13). Por lo tanto los pesticidas son altamente tóxicos y pueden causar anomalías crónicas en seres humanos, destruyendo el medio ambiente y la biodiversidad (14).

El uso de pesticidas en la agricultura ayuda a incrementar el rendimiento de los cultivos, para cumplir con las demandas de la creciente población humana. Sin embargo, la aplicación continua puede causar anomalías crónicas en humanos, y destruir el medio ambiente y la biodiversidad (14, 15).

En nuestro país, existen varios pesticidas en uso, dentro de los cuales, los más utilizados son carbamatos y organofosforados. Dentro del grupo de los carbamatos están el carbofurano y metomilo, y dentro del grupo de los organofosforados están el dimetoato y metamidofos. Debido a su gran toxicidad, en términos de sus efectos en la salud humana, por exposición aguda o crónica, el muestreo en personas que presentan algún síntoma de envenenamiento es crucial para un diagnóstico oportuno (16).

Los compuestos organofosforados son moléculas orgánicas que contienen grupos fosfato que tienen la capacidad de inactivar irreversiblemente la enzima acetilcolinesterasa (AChE) (17-19). La exposición humana a compuestos organofosforados puede disminuir la actividad de los neurotransmisores vitales, lo que resulta en síntomas incapacitantes que varían desde rinorrea, salivación excesiva, transpiración, lagrimeo, dolores de cabeza, náuseas, vómitos, dolor abdominal, opresión en el pecho, disnea, micción involuntaria y defecación, fasciculación muscular, convulsiones, coma, y potencialmente incluso la muerte (18, 20, 21). El dimetoato (O, O-dimetil-S-metilcarbamoilmetilfosforotioato), o DMT, es uno de los compuestos organofosforados más utilizados (18, 22).

Los pesticidas del grupo de carbamatos son derivados de N-metilcarbamatos, que comprenden varios compuestos, entre los cuales encontramos bendiocarb, carbarilo, carbofurano, metomilo, oxamilo, propoxur, entre muchos otros. El aldicarb, el carbofurano y el propoxur se encuentran comúnmente en venenos en perros, mamíferos y aves silvestres (23). Los signos clínicos agudos de toxicidad por los insecticidas N-metilcarbamato están asociados con la inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE) en las sinapsis del cerebro y en las uniones neuromusculares en los músculos esqueléticos. Además, estos pesticidas carbamatos pueden asociarse fácilmente con muchas otras enzimas, proteínas y receptores. Los carbamatos inhiben la actividad de la AChE por la carbamilación y, como resultado, la acetilcolina (ACh) se acumula en las terminaciones nerviosas de todos los nervios colinérgicos, lo que provoca una sobreestimulación de la actividad eléctrica. La inhibición de más del 70% de AChE conduce a niveles de acumulación tóxica de ACh en las uniones colinérgicas. Los carbamatos interactúan de la misma manera que el sustrato natural ACh, excepto que la velocidad de hidrólisis y reactivación de AChE es muy lenta (15 a 30 min) en comparación con la hidrólisis de la enzima acetilada (23).

Metomilo, se introdujo en 1966 como un insecticida de amplio espectro. Se utiliza para el tratamiento foliar de hortalizas, frutas y cultivos de campo, algodón y plantas ornamentales comerciales, alrededor de gallineros y establos. El metomilo es un inhibidor altamente tóxico de la colinesterasa. Los carbamatos son hidrolizados enzimáticamente por el hígado; los productos de degradación son excretados por los riñones y el hígado. La depresión respiratoria combinada con edema pulmonar es la causa habitual de muerte por envenenamiento por compuestos de carbamatos. Al igual que con los organofosforados, los signos y síntomas se basan en una estimulación colinérgica excesiva. A diferencia del envenenamiento con organofosfato, el envenenamiento con carbamatos tiende a ser de menor duración porque la inhibición de la acetilcolinesterasa del tejido nervioso (AChE) es reversible, y los carbamatos se metabolizan más rápidamente. La debilidad muscular, el

vértigo, la sudoración y las molestias leves en el cuerpo son síntomas tempranos comunes. El dolor de cabeza, la salivación, las náuseas, los vómitos, el dolor abdominal y la diarrea a menudo son prominentes en los niveles más altos de exposición (24).

Carbofurano (2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofuranilo metilcarbamato), es uno de los más tóxicos carbamatos. Se utiliza para el control de insectos en una amplia variedad de cultivos de campo, incluidas las patatas, maíz y soja. Es responsable de la más alta toxicidad aguda para los seres humanos en comparación con cualquier otro insecticida utilizado en la agricultura. En los animales y los seres humanos, la toxicidad del carbofurano se caracteriza por la inactivación reversible de la acetilcolinesterasa (AChE) que resulta en síntomas colinérgicos. Además de los efectos neurotóxicos, carbofurano también se ha informado que afectan el metabolismo de esteroides en los mamíferos. Los individuos con altos niveles de exposición al carbofurano y otros pesticidas de carbamato pueden tener mayor riesgo de cáncer de pulmón y linfoma no-Hodgkins de Células beta. Los síntomas de intoxicación aguda, ya sea por ingestión gastrointestinal (GI) o exposición por inhalación, incluyen bradicardia, broncoespasmo, broncorrea, diarrea, emesis, lagrimeo, miosis, salivación, micción y algunos síntomas nicotínicos como la fasciculación muscular y la debilidad (25).

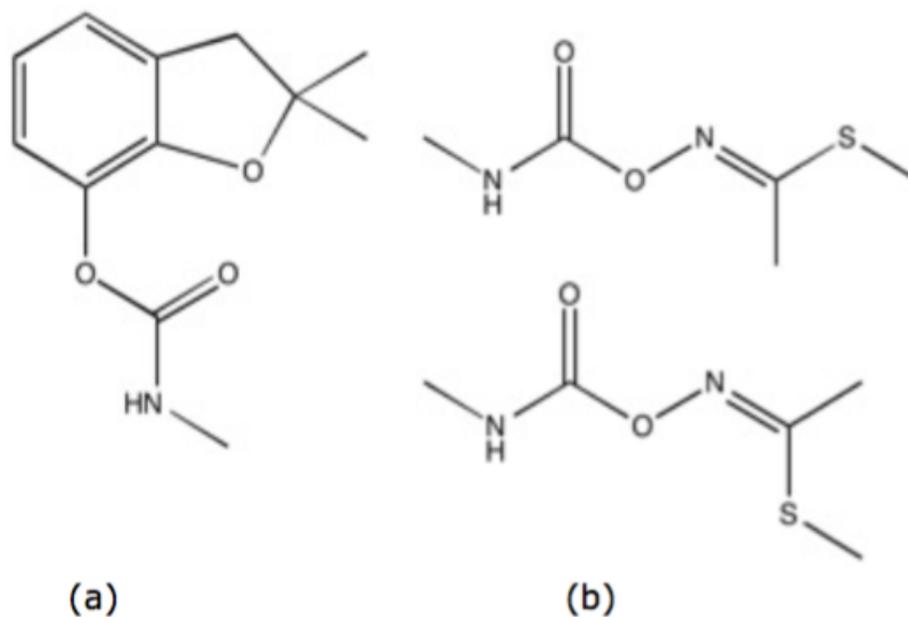


Figura 1: Estructura química carbamatos. (a) carbofurano, (b) metomilo (Marican A., 2018).

3.2 Hidrogeles

El término hidrogel se utiliza para denominar a un tipo de material de base polimérica caracterizado por su extraordinaria capacidad para absorber agua y diferentes fluidos. La hidrofilia de estos geles es debido a grupos como: -OH, -COOH, -CONH₂, y -SO₃H. Esta propiedad de absorber agua les convierten en materiales de enorme interés, sobre todo en la medicina como sistemas de liberación controlada y/o sostenida de principios activos, dispositivos para diagnóstico, sustrato para el cultivo de células, geles para electroforesis, desintoxicantes sanguíneos, membranas para hemodiálisis, sistemas terapéuticos biodegradables, lentes de contacto e implantes (26, 27).

Los hidrogeles pueden mantener una estructura tridimensional, debido al material de base polimérica. Los hidrogeles son los primeros biomateriales diseñados para su uso en el cuerpo humano (28).

Los hidrogeles se obtienen mediante polimerización y entrecruzamiento simultáneo de uno o varios monómeros mono o polifuncionales. Las características de estos monómeros (tipo de grupos que lo forman) y el grado de entrecruzamiento determina las propiedades de hinchamiento del xerogel (hidrogel seco) y por tanto su aplicabilidad. En la mayoría de los casos, un solo monómero no proporciona al mismo tiempo buenas propiedades mecánicas y gran retención de agua, por ello es necesario recurrir a la copolimerización, para poder obtener un mejor compromiso de estas dos propiedades (27).

La característica principal de los hidrogeles es su porosidad, que puede ser sintonizable ajustando la densidad de enlaces cruzados en su estructura y su atracción hacia las moléculas de agua (28). Los hidrogeles de alcohol polivinílico (PVA), ácidos dicarboxílicos (DCA) y ciclodextrinas (CD) se usan comúnmente como biomateriales porque tienen una alta biocompatibilidad y están aprobados por la FDA (29).

La quitina se encuentra distribuida ampliamente en la naturaleza, después de la celulosa (materia base del papel), es el segundo polisacárido en abundancia. Sus fuentes principales

son el exoesqueleto de muchos crustáceos, alas de insectos (escarabajos, cucarachas), paredes celulares de hongos, algas, etcétera. Sin embargo, la producción industrial de este biomaterial prácticamente se basa en el tratamiento de las conchas de diversos tipos de crustáceos (camarones, langostas, cangrejos y langostinos) debido a la factibilidad de encontrar estos materiales como desecho de las plantas procesadoras de estas especies (30). El quitosano es un polisacárido que su principal forma de obtención es a partir de la quitina, mediante la hidrólisis, en medio alcalino muy concentrado, usualmente hidróxido de sodio o de potasio, a altas temperaturas, ocurriendo la desacetilación. El quitosano constituye el derivado más importante de la quitina y presenta propiedades significativamente diferentes a ella.

El quitosano por hidrólisis del grupo aminoacetilo de la quitina, un homopolímero de cadena lineal compuesto por unidades de β - (1,4) -2-acetamido-2-desoxi- d -glucosa. El quitosano tiene un grupo amino primario y dos grupos hidroxilo libres para cada unidad de glucosa. Los grupos amino catiónicos reaccionan con varios aniones multivalentes para formar hidrogeles. En ambientes fisiológicos, varias enzimas, como la quitosanasa y la lisozima, degradan el quitosán y forman productos inocuos. El aumento de la desacetilación mejora la biocompatibilidad del quitosán. El atrapamiento de las células del cartílago viables en el hidrogel de quitosano no produce un efecto adverso significativo lo que mejora la biocompatibilidad. Además posee propiedades, como la complejación, el efecto bacteriostático, la capacidad de absorción y propiedades antioxidantes (31).

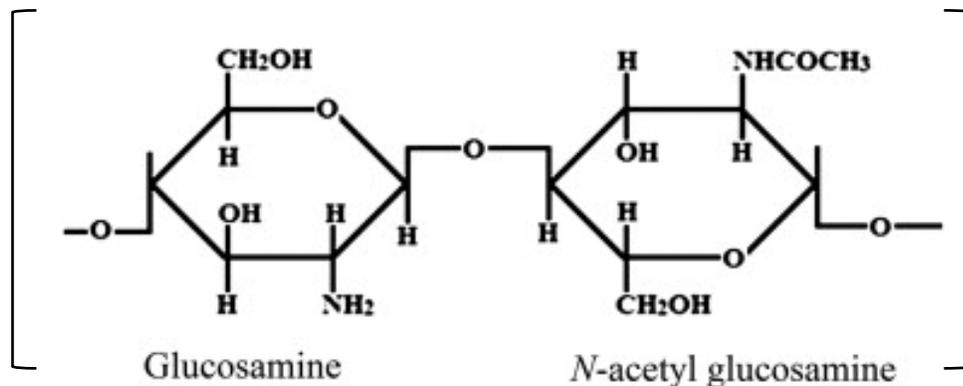


Figura 2: Estructura química del Quitosano (31).

Debido a las propiedades funcionales y físico-químicas del quitosano, se ha podido identificar una enorme cantidad de aplicaciones que abarcan áreas tan variadas como: alimentación, medicina, agricultura, cosmética, farmacia, entre otras. Se han reportado diversos métodos físico-químicos para su obtención y caracterización. Sin embargo, su aplicación está limitada principalmente debido a la variación en su composición química, grado de desacetilación, tamaño de la cadena polimérica y purificación. La fuente de quitina y los incontrolados procesos de desacetilación son los principales factores que afectan las propiedades finales del quitosano (32).

El alcohol polivinílico o polivinil alcohol (PVA), es un polímero hidrofílico, no tóxico, biocompatible, con buenas propiedades mecánicas y muy estable durante largos períodos en diferentes condiciones de temperatura y pH. A partir de este polímero se pueden obtener hidrogeles por entrecruzamiento físico o químico (33).

La estructura altamente porosa se puede ajustar fácilmente controlando la densidad de los agentes de reticulación (grado de reticulación). Por lo tanto, las propiedades estructurales del hidrogel y su afinidad por ciertas moléculas bioactivas dependerán directamente de la selección de polímeros constituyentes y del tipo de agente de reticulación que formará la malla reticulada del polímero (34).

La preparación de hidrogeles de PVA se puede realizar por métodos químicos, que implican la formación de interacciones y enlaces entre las cadenas de PVA y los grupos funcionales de los agentes de reticulación. El uso de ácidos dicarboxílicos como agentes de reticulación genera hidrogeles de PVA flexibles y transparentes que son capaces de interactuar con compuestos solubles en agua. Estos ácidos tienen dos grupos funcionales carboxílicos en ambos extremos de su estructura, que a través de un proceso de esterificación, pueden generar enlaces covalentes con los grupos hidroxilo que están ubicados en las cadenas de PVA, generando la reticulación y la porosidad estructural del hidrogel (34).

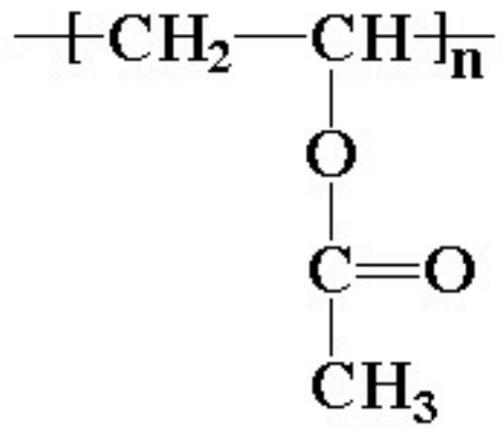


Figura 3: Estructura química del PVA (Marican A., 2018)

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

- Síntesis y evaluación de hidrogeles con propiedades de microextracción y determinación cuantitativa de pesticidas carbamatos en soluciones acuosas.

4.2. Objetivos Especificos

- Sintetizar hidrogeles basados en polivinil-alcohol (PVA) y a distintas concentraciones de ácido malico (AM), para su uso en determinación cuantitativa de pesticidas .
- Sintetizar hidrogeles basados en quitosano/alginato de calcio, para su uso en la pesquisa cuantitativa de pesticidas.
- Evaluar la eficiencia de nuevos materiales insolubles basados en hidrogeles como una posible fase de sorción para extraer y preconcentrar pesticidas carbamatos desde matrices acuosas y su posterior desorción para su determinación.

5. MATERIALES Y METODOS

5.1 Materiales

Alcohol polivinílico (PVA), ácido málico (MA), bicarbonato de sodio (NaHCO_3), ácido clorídrico (HCl) y metanol (para HPLC), agua destilada, agua MilliQ y pesticidas (carbofurano y metomilo).

Matraz de reacción, balanza analítica, probeta, agitador magnético, horno de laboratorio, placa petri, viales de 20 ml, viales para HPLC, vaso precipitado, micropipeta, puntas para micropipeta y refrigerador.

5.2 Metodos

5.2.1 Síntesis de micropartículas de alginato de calcio recubiertas de quitosán (CCCA) y complejos de quitosano-alginato de calcio (CCAC).

Las micropartículas de alginato de calcio recubierto de quitosán (CCCA) se prepararán utilizando quitosán / alginato de sodio como material de recubrimiento, empleando una técnica de gelificación ionotrópica (35). La gelificación ionotrópica se puede aplicar para preparar micropartículas utilizando combinaciones de quitosán (CC) y Ca^{+2} como componentes catiónicos y alginato como anión. Primero, el alginato de sodio se disolverá en agua destilada (pH 6.5) a una concentración de 1.0% en peso. Después de mezclar bien, la solución de alginato de sodio se deja caer con una jeringa hipodérmica gota a gota a 60 gotas / minuto en 500 ml de solución acuosa de cloruro de calcio 0,1 M bajo agitación magnética para formar micropartículas de alginato de calcio (CA). Luego, las micropartículas de CA así formadas se lavarán con agua destilada y se transferirán a una solución de quitosán a una concentración del 1% (p / v) en ácido acético acuoso al 1% (p / v) bajo agitación magnética suave durante 10 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, las micropartículas de complejo de alginato de calcio y quitosano (CCCA) se recuperarán por filtración, se lavarán con agua destilada y se secarán a temperatura ambiente. Las condiciones óptimas para la producción de las micropartículas de CA se utilizarán para preparar micropartículas de CCAC. En el caso de las micropartículas de CCAC, el CaCl_2 se disolverá en 50 ml de solución acuosa de ácido acético al 1% (p / v) que contiene 1% (p / v) de quitosán.

5.2.2 Síntesis de hidrogeles basados en polímeros de polivinil alcohol-ácido málico (PVA-MA), a diferentes proporciones de reticulante.

El agente de reticulación MA tiene dos grupos de ácido carboxílico en su estructura. A través de una reacción de esterificación del reticulante y los grupos hidroxilo del PVA, se formará el hidrogel. La reticulación del hidrogel generará porosidad en su estructura (36). Brevemente, las reacciones se realizarán mezclando 1 g de PVA con 100, 200 y 300 mg de MA, para obtener hidrogeles al 10%, 20% y 30% respectivamente. Luego agregar al matraz de reacción 8 ml de agua destilada más 100 µl de HCl. Las reacciones se realizarán a reflujo a 80°C con agitación magnética, durante 3 horas y observando constantemente si existe variación de la temperatura. Después de las 3 horas, el contenido del matraz de reacción se debe verter en una placa petri y dejar en un horno a 37°C durante otras 3 horas para completar la reticulación. Luego de pasado el tiempo en el horno despegar el hidrogel de la placa petri y lavar tres veces con bicarbonato de sodio (NaHCO_3), para poder eliminar el exceso de ácido que exista en este. Finalmente, los hidrogeles se liofilizarán para obtener los xerogeles.

5.2.3 Preparación de estándares de metomilo y carbofurano.

De una solución madre del pesticida, sacar un volumen determinado de este para preparar una cantidad suficiente de estándar que tenga una concentración de 1 mg/L, completar volumen con agua MilliQ según requerimiento para realizar los ensayos previstos. Repetir el mismo procedimiento para ambos pesticidas. Almacenar ambos

estandar en el refrigerador a temperatura de $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Considerar que el estandar de carbofurano se debe almacenar en un contenedor ambar.

5.2.4 Procedimiento de ensayos experimentales

Iniciar el procedimiento masando el hidrogel a un peso de 30 mg, luego poner este en un vial de 20 ml. y añadir 10 ml. de estandar a mg/L, dejar este vial en agitación magnetica durante el tiempo ya estandarizado para la captación del pesticida. Pasado el tiempo de captación, sacar el hidrogel con una pinza y secar este con papel absorbente. Ya secado el hidrogel dejarlo en un nuevo vial y agregar 5 ml de metanol cuando se realice ensayos con el hidrogel PVA-MA o 10 ml de metanol cuando se utilice para ensayos de hidrogel Alginato de Calcio-Quitano, dejar este vial en agitación magnetica durante el tiempo ya estandarizado para la desorción. Cumplido el tiempo sacar el contenido liquido con una jeringa de 5 ml, y filtrar mediante un filtro especifico para la jeringa en vial para HPLC, dejar este en el refrigerador a una temperatura de $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta su analisis por el metodo de GC/MS. Repetir el mismo procedimiento para todos los ensayos, teniendo en consideración el volumen a utilizar de metanol en el proceso de desorción según el hidrogel que se este usando. Tener en consideración tambien que al momento de trabajar con el pesticida carbofurano usar viales color ambar.

5.2.5 Desarrollo de método cromatográfico para la separación y detección de carbofurano y metomilo.

La separación cromatográfica y detección se realizó en un equipo de cromatografía gaseosa, modelo Trace 1300 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) acoplado a un detector de masas de cuadrupolo simple, modelo ISQ Mass Spectrometer (Thermo Fisher Scientific), y a un autosampler AS 3000 (Thermo Fisher Scientific). Se utilizó una columna cromatográfica Rtx-5MS (30 m, 0,25 mm ID, 0,25 μm df) (Restek, USA), en las siguientes condiciones: Se utilizó Helio como gas portador, a un flujo de 1,5 mL min⁻¹. La línea de interfase del espectrómetro de masas se mantuvo a 280 °C, mientras que el inyector se mantuvo a 250 °C. La temperatura inicial del horno fue 50 °C, luego de 1 min, la temperatura del horno se incrementó hasta 125 °C a una razón de 25 °C min⁻¹, y luego hasta 250 °C, a una razón de 10 °C min⁻¹, manteniéndose por 5 min. El espectrómetro de masas fue operado en modo de ionización por impacto de electrones, con la fuente a una temperatura de 280 °C, y una corriente de emisión de 35 eV. Metomilo y Carbofurano, fueron detectados utilizando monitoreo de iones seleccionados (SIM), utilizándose para cuantificación las m/z 104 y 221, respectivamente (37).

5.2.6 Correlación estadística de los datos recopilados para obtener las condiciones experimentales óptimas para la extracción y desorción, en modo discontinuo, en términos de tiempo de contacto, dosis de compuesto, pH y porcentaje de recuperación.

Se realizará un diseño experimental de $2N + 1$ (puntos centrales $N + 1$) para determinar las mejores condiciones experimentales para la extracción y desorción para carbofurano y metomilo. Las variables experimentales que se evaluarán son: tiempo de contacto, pH, velocidad de agitación y dosis compuesta. Los datos recopilados se codificarán entre -1 y 1 para dar el mismo peso estadístico a las variables experimentales. Los gráficos de Pareto se utilizarán para determinar la importancia estadística de las variables y la superficie de respuesta estimada para determinar el comportamiento de las variables experimentales. Además, la función de deseabilidad de Derringer (D) se utilizará si las condiciones óptimas predichas por los modelos no convergen para determinar las condiciones experimentales óptimas de la extracción general de todos los analitos.

Tabla 1: Valores codificados, para las condiciones experimentales óptimas en los procesos de extracción y desorción.

Experimento	Composición hidrogel [%]	Tiempo de captura [min.]	Tiempo desorción [min.]
1	10 (-1)	10 (-1)	60 (-1)
2	30 (1)	10 (-1)	60 (-1)
3	10 (-1)	120 (1)	60 (-1)
4	30 (1)	120 (1)	60 (-1)
5	10 (-1)	10 (-1)	120 (1)
6	30 (1)	10 (-1)	120 (1)
7	10 (-1)	120 (1)	120 (1)
8	30 (1)	120 (1)	120 (1)
9	20 (0)	65 (0)	90 (0)
10	20 (0)	65 (0)	90 (0)
11	20 (0)	65 (0)	90 (0)

6. RESULTADOS

6.1 Determinación cuantitativa de Metomilo al usar como hidrogel PVA-MA.

La tabla 2 muestra el analisis cuantitativo del pesticida metomilo , donde se puede observar la concentración a la que se encuentra el hidrogel (PVA-MA). La tabla 2 tambien muestra la concentración [mg/L] de Metomilo que se pudo extraer utilizando el hidrogel PVA-MA. La tabla 2 se puede observar el porcentaje de recuperabilidad del analito que se esta pesquisando, lo cual fue graficado en la figura 4 donde se muestran las 11 determinaciones con sus respectivos porcentajes de recuperación del pesticida en solución acuosa.

Tabla 2: Analisis cuantitativo de metomilo al usar hidrogel PVA-MA.

Muestra	Composición hidrogel [%]	Tiempo de captura [min.]	Tiempo de desorción [min.]	Área	Concentración [mg/L]	Porcentaje de recuperabilidad [%]
1	10	10	60	171674	0,096	9,6
2	30	10	60	209969	0,118	11,8
3	10	120	60	191016	0,107	10,7
4	30	120	60	185153	0,104	10,4
5	10	10	120	155609	0,087	8,7

6	30	10	120	168317	0,094	9,4
7	10	120	120	571149	0,320	32
8	30	120	120	145548	0,082	8,2
9	20	65	90	145765	0,082	8,2
10	20	65	90	136905	0,077	7,7
11	20	65	90	134980	0,076	7,6

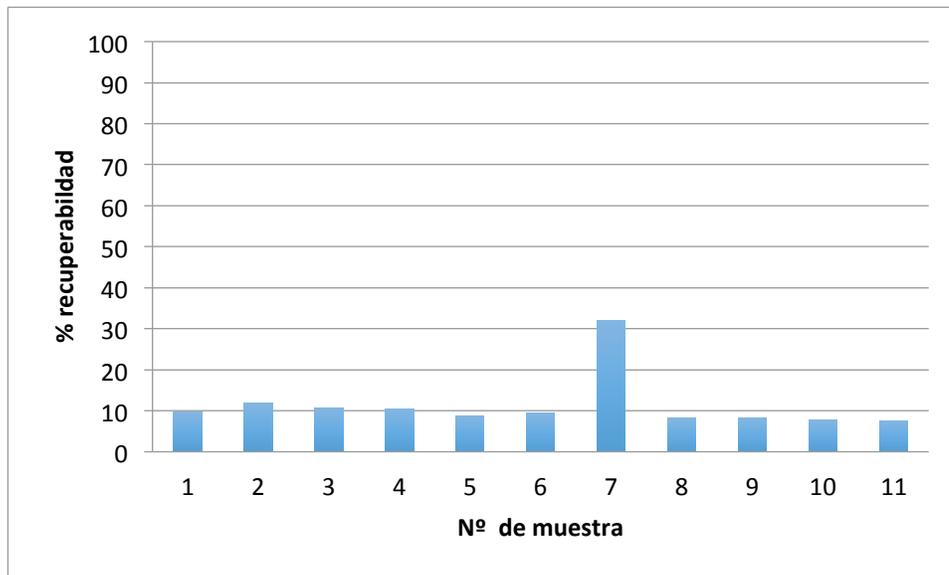


Figura 4: Porcentaje de recuperabilidad de metomilo al utilizar el hidrogel PVA-MA.

6.2 Determinación cuantitativa de Carbofurano al usar como hidrogel PVA-MA.

La tabla 3 muestra el análisis cuantitativo del pesticida carbofurano, donde se puede observar la concentración a la que se encuentra el hidrogel (PVA-MA). La tabla 3 también muestra la concentración [mg/L] de carbofurano que se pudo extraer utilizando el hidrogel PVA-MA. La tabla 3 se puede observar el porcentaje de recuperabilidad del analito que se está pesquisando, lo cual fue graficado en la figura 5 donde se muestran las 11 determinaciones con sus respectivos porcentajes de recuperación del pesticida en solución acuosa.

Tabla 3: Análisis cuantitativo de carbofurano al usar hidrogel PVA-MA.

Muestra	Composición hidrogel [%]	Tiempo de captura [min.]	Tiempo de desorción [min.]	Área	Concentración [mg/L]	Porcentaje de recuperabilidad [%]
1	10	10	60	140521	0,66	66
2	30	10	60	76140	0,36	36
3	10	120	60	112679	0,53	53
4	30	120	60	88614	0,42	42
5	10	10	120	185709	0,88	88
6	30	10	120	130497	0,62	62
7	10	120	120	74698	0,35	35
8	30	120	120	127604	0,60	60

9	20	65	90	151484	0,72	72
10	20	65	90	93375	0,44	44
11	20	65	90	112860	0,53	53

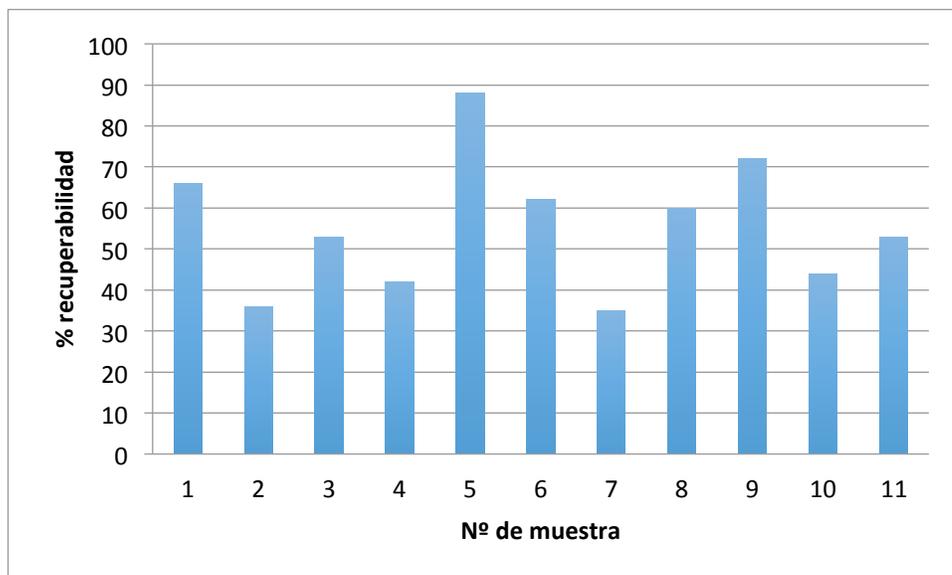


Figura 5: Porcentaje de recuperabilidad de carbofunaro al utilizar el hidrogel PVA-MA.

6.3 Determinación cuantitativa de Metomilo al usar como hidrogel Quitosano.

La tabla 4 muestra el analisis cuantitativo del pesticida metomilo , donde se puede observar la concentración a la que se encuentra el hidrogel quitosano. La tabla 4 tambien muestra la concentración [mg/L] de metomilo que se pudo extraer utilizando el hidrogel quitosano. La

tabla 4 se puede observar el porcentaje de recuperabilidad del analito que se esta pesquisando, lo cual fue graficado en la figura 6 donde se muestran las 11 determinaciones con sus respectivos porcentajes de recuperaci3n del pesticida en soluci3n acuosa.

Tabla 4: Analisis cuantitativo de metomilo al usar hidrogel Quitosano.

Muestras	Composici3n hidrogel [%]	Tiempo de captura [min.]	Tiempo de desorci3n [min.]	Área	Concentraci3n [mg/L]	Porcentaje de recuperabilidad [%]
1	10	10	60	890619	0,997	99,7
2	30	10	60	506215	0,568	56,8
3	10	120	60	606619	0,681	68,1
4	30	120	60	465772	0,523	52,3
5	10	10	120	444315	0,498	49,8
6	30	10	120	408562	0,458	45,8
7	10	120	120	318024	0,357	35,7
8	30	120	120	283390	0,318	31,8
9	20	65	90	319722	0,359	35,9
10	20	65	90	249931	0,280	28
11	20	65	90	273264	0,307	30,7

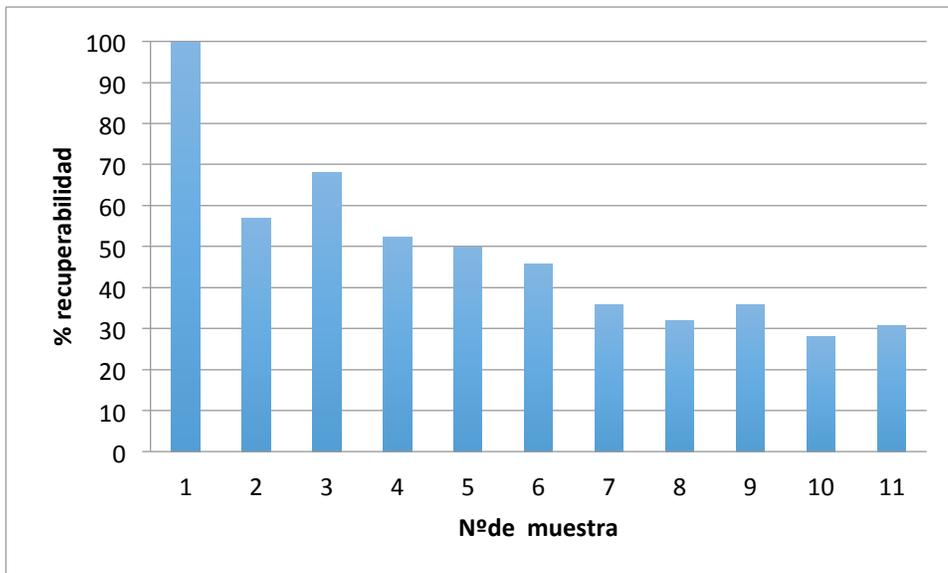


Figura 6: Porcentaje de recuperabilidad de metomilo al utilizar el hidrogel quitosano.

6.4 Determinación cuantitativa de carbofurano al usar como hidrogel quitosano.

La tabla 5 muestra el análisis cuantitativo del pesticida carbofurano, donde se puede observar la concentración a la que se encuentra el hidrogel quitosano. La tabla 5 también muestra la concentración [mg/L] de carbofurano que se pudo extraer utilizando el hidrogel quitosano. La tabla 5 se puede observar el porcentaje de recuperabilidad del analito que se está pesquizando, lo cual fue graficado en la figura 7 donde se muestran las 11 determinaciones con sus respectivos porcentajes de recuperabilidad del pesticida en solución acuosa.

Tabla 5: Analisis cuantitativo de Carbofurano al usar hidrogel Quitosano.

Muestras	Composición hidrogel [%]	Tiempo de captura [min.]	Tiempo de desorción [min.]	Área	Concentración [mg/L]	Porcentaje de recuperabilidad [%]
1	10	10	60	90380	0,85	85
2	30	10	60	129281	1,00	100
3	10	120	60	76636	0,72	72
4	30	120	60	113770	1,00	100
5	10	10	120	79217	0,75	75
6	30	10	120	75517	0,71	71
7	10	120	120	104640	0,99	99
8	30	120	120	71295	0,67	67
9	20	65	90	258188	0,75	75
10	20	65	90	83952	0,79	79
11	20	65	90	78270	0,74	74

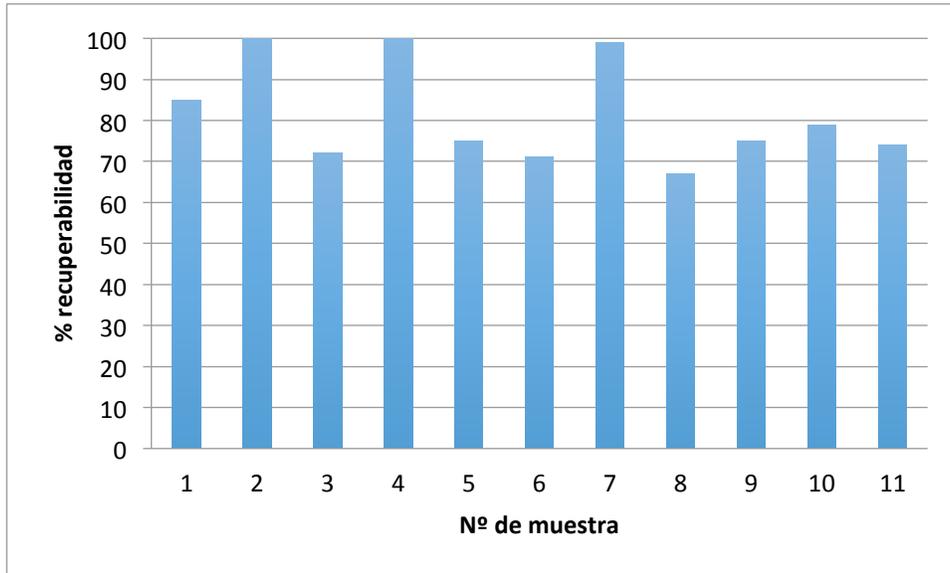


Figura 7: Porcentaje de recuperabilidad de carbofunaro al utilizar el hidrogel Quitosano.

6.5 Analisis del proceso de desorción de metomilo, al usar hidrogel Quitosano.

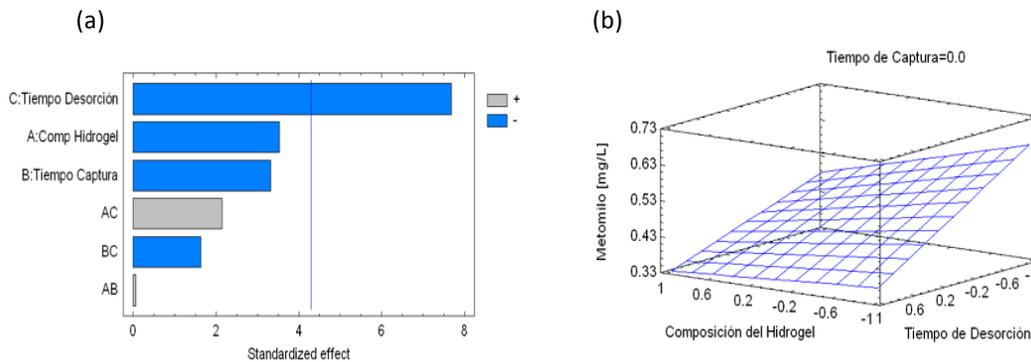


Figura 8: (a) Gráfico de Pareto estandarizado para la liberación de Metomilo, debido al tratamiento con hidrogel de Quitosano/Alginato de Calcio (Donde: A, composición del hidrogel; B, tiempo de captura; C: tiempo de desorción; AB, AC y BC, interacciones. La línea azul representa el valor de t crítico, 95% confianza); (b) Superficie de respuesta estimada.

La ecuación de regresión del modelo es:

$$\text{Concentración de Metomilo} = 0,462 + 0,050 * A - 0,047 * B - 0,109 * C + 0,001 * A * B + 0,030 * A * C - 0,023 * B * C$$

($R^2=61,19$).

Las condiciones óptimas para la liberación de este compuesto son las siguientes: composición del hidrogel, 10%, tiempo de captura de 10 min, y un tiempo de desorción de 60 min. A pesar de que sólo el Tiempo de desorción es estadísticamente significativo, se prefiere trabajar a un bajo tiempo de captura, y a una alta composición del hidrogel, para que la desorción del Metomilo sea óptima. En estas condiciones experimentales, se obtuvo una desorción de Metomilo de $1,00 \pm 0,03 \text{ mg L}^{-1}$ (n=3).

6.6 Analisis del proceso de desorción de Carbofurano, al usar hidrogel Quitosano.

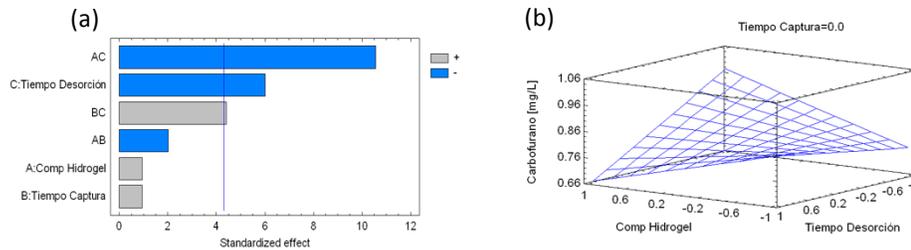


Figura 9: (a) Gráfico de Pareto estandarizado para la liberación de Carbofurano, debido al tratamiento con hidrogel de Quitosano/Alginato de Calcio (Donde: A, composición del hidrogel; B, tiempo de captura; C: tiempo de desorción; AB, AC y BC, interacciones. La línea azul representa el valor de t crítico, 95% confianza); (b) Superficie de respuesta estimada.

La ecuación de regresión del modelo es:

$$\text{Concentración de Carbofurano} = 0,816 + 0,009 * A + 0,009 * B - 0,056 * C - 0,019 * A * B - 0,099 * A * C + 0,041 * B * C$$

($R^2=77,51$).

Las condiciones óptimas para la liberación de este compuesto son las siguientes: composición del hidrogel, 30%, tiempo de captura de 10 min, y un tiempo de desorción de 60 min. A pesar de que sólo el Tiempo de desorción es estadísticamente significativo, se

prefiere trabajar a un bajo tiempo de captura, y a una alta composición del hidrogel, para que la desorción del Carbofurano sea óptima. En estas condiciones experimentales, se obtuvo una desorción de Carbofurano de $0,81 \pm 0,16 \text{ mg L}^{-1}$ (n=3).

7. DISCUSIÓN

Como se puede observar en la tabla numero 2 y 3 se trabajo con el hidrogel a base de polivinil alcohol (PVA) y a distintas concentraciones de ácido malico (MA), para la determinación cuantitativa de metomilo (tabla 2) y carbofurano (tabla 3), posteriormente se obtuvieron los porcentajes de recuperabilidad para ambos pesticidas con el mismo hidrogel. Se puede observar claramente que el porcentaje de recuperabilidad en la figura 4 para el pesticida metomilo es muy bajo, lo cual tiene como explicación que el hidrogel realiza el proceso de captación de buena manera, ya que se puede observar un aumento de volumen (hinchamiento) del hidrogel cuando esta en la solución acuosa que posee el analito, pero al momento de realizar el proceso de desorción el hidrogel no libera de buena manera lo que fue captado en el proceso anterior. Lo mismo ocurre al momento de observar el porcentaje de recuperabilidad del pesticida carbofurano (figura 5), en este caso se ve un aumento en la liberación del pesticida en el proceso de desorción, pero de igual manera el hidrogel (PVA-MA) sigue reteniendo gran cantidad del analito y no libera lo esperado para su posterior pesquiza.

Tambien se trabajo con el hidrogel quitosano/alginato de calcio para ambos pesticidas lo cual se puede observar en la tabla numero 4 (metomil) y 5 (carbofurano). En este caso se pude observar tambien un aumento en el volumen del hidrogel al momento de realizar el proceso de captación del pesticida en la solución acuosa, pero a diferencia de lo anterior este hidrogel se puede observar que al realizar el proceso de desorción si libera suficiente pesticida el cual luego puede ser pesquisado, esto se comprueba al observar la figura 6 y 7, donde se puede percibir que el porcentaje de recuperabilidad es mayor en ambos casos, esto

demuestra que el hidrogel puede realizar los procesos de captación y posteriormente de desorción de buena manera, para su posterior determinación.

Otra característica importante que se puede observar, que existe un porcentaje de recuperabilidad mayor con el pesticida carbofurano comparado con el porcentaje de recuperabilidad del pesticida metomilo, lo cual se puede deber a que el pesticida tenga una alta afinidad al momento de realizar la captación de este por el hidrogel o por una mayor liberación del pesticida en el proceso de desorción.

Mediante estos estudios se puede percibir condiciones óptimas de trabajo para la determinación cuantitativa de pesticidas carbamatos (metomilo y carbofurano) en soluciones acuosas, lo cual puede ser implementado para la pesquisa de estos en personas que están expuestas de manera aguda o crónica a estos agentes, los cuales pueden ser muy dañinos para la salud del paciente.

Las condiciones óptimas para la liberación de Metomilo, son una composición del hidrogel al 10% (Quitosano/alginate de calcio), un tiempo de captura de 10 min, y un tiempo de desorción de 60 min. A pesar de que sólo el Tiempo de desorción es estadísticamente significativo, se prefiere trabajar a un bajo tiempo de captura, y a una alta composición del hidrogel, para que la desorción del Metomilo sea óptima. En estas condiciones experimentales, se obtuvo una desorción de Metomilo de $1,00 \pm 0,03$ mg/L-1 (n=3).

Las condiciones óptimas para la liberación de Carbofurano, son una composición del hidrogel al 30% (Quitosano/alginato de calcio), un tiempo de captura de 10 min, y un tiempo de desorción de 60 min. A pesar de que sólo el Tiempo de desorción es estadísticamente significativo, se prefiere trabajar a un bajo tiempo de captura, y a una alta composición del hidrogel, para que la desorción del Carbofurano sea óptima. En estas condiciones experimentales, se obtuvo una desorción de Carbofurano de $0,81 \pm 0,16$ mg/L-1 (n=3).

Otros autores han descrito trabajados en el estudios de optimización de los metodos de extracción (38), el uso de materiales poliméricos para la captura de compuestos no deseados en los vinos (39), la desintoxicación de los plaguicidas que utilizan los nanomateriales (20, 22), y el diseño racional y la síntesis de hidrogeles para la eliminación de pesticidas. Recientemente, se han sintetizado con éxito hidrogeles sobre la base de PVA-MA en diferentes proporciones para la captura de metamidofos y dimetoato (34, 40).

Los resultados de esta investigación proporcionarán una solución rápida, eficiente y barata para el tratamiento de la muestra en la determinación de pesticidas.

8. CONCLUSIONES

Mediante estos estudios se ha desarrollado las condiciones optimas de trabajo para la determinación cuantitativa de pesticidas carbamatos (metomilo y carbofurano) en soluciones acuosas, donde las condiciones óptimas para la liberación de Metomilo son: una composición del hidrogel al 10% (Quitosano/alginato de calcio), un tiempo de captura de 10 minutos y un tiempo de desorción de 60 minutos. Las condiciones óptimas para la liberación de Carbofurano son: una composición del hidrogel al 30% (Quitosano/alginato de calcio), un tiempo de captura de 10 min, y un tiempo de desorción de 60 min.

Los resultados de este proyecto de investigación proporcionarán una solución rápida, eficiente y barata para el tratamiento de la muestra en la determinación de pesticidas tóxicos en soluciones acuosas. Las ventajas se encuentran en los materiales propuestos que tienen varias características como alta insolubilidad, facilidad de manejo, de preparación y separación de la solución de prueba.

En nuestro país, existen varios pesticidas en uso, dentro de los cuales se encuentran los de interes los carbamatos. Debido a su gran toxicidad, en términos de sus efectos en la salud humana, por exposición aguda o crónica, el muestreo en personas que presentan algún síntoma de envenenamiento es crucial para un diagnóstico oportuno.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Andreu V, Picó Y. Determination of currently used pesticides in biota. *Anal Bioanal Chem.* 2012;404(9):2659-81.
2. Damalas CA, Eleftherohorinos IG. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *Int J Environ Res Public Health.* 2011;8(5):1402-19.
3. Kumar A, Malik AK, Picó Y. Sample preparation methods for the determination of pesticides in foods using CE-UV/MS. *Electrophoresis.* 2010;31(13):2115-25.
4. Soler C, Picó Y. Recent trends in liquid chromatography-tandem mass spectrometry to determine pesticides and their metabolites in food. *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 2007;26(2):103-15.
5. Ahmed EM. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of Advanced Research.* 2015;6(2):105-21.
6. Carhuapoma W, Santiago J. Caracterización de hidrogeles de Quitosano-Alcohol Polivinílico obtenidos por radiación gamma2005.
7. Aktar MW, Sengupta D, Chowdhury A. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdiscip Toxicol.* 2009;2(1):1-12.
8. Rodríguez dp. Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* 2014;52.
9. Foo KY, Hameed BH. Detoxification of pesticide waste via activated carbon adsorption process. *J Hazard Mater.* 2010;175(1-3):1-11.
10. George J, Shukla Y. Pesticides and cancer: insights into toxicoproteomic-based findings. *J Proteomics.* 2011;74(12):2713-22.
11. Hamza RA, Iorhemen OT, Tay JH. Incidencia, impacto y eliminación de sustancias emergentes de preocupación de las aguas residuales. *Tecnología Ambiental e Innovación [Internet].* 2016. Available from: <https://sci-hub.tw/10.1016/j.eti.2016.02.003>.
12. Khan FI, Husain T, Hejazi R. An overview and analysis of site remediation technologies. *J Environ Manage.* 2004;71(2):95-122.

13. Odukkathil G, Vasudevan N. *Revisiónes en Ciencias Ambientales y Bio / Tecnología*. Springer, editor. india2013.
14. Jariyal M, Gupta VK, Jindal V, Mandal K. Isolation and evaluation of potent *Pseudomonas* species for bioremediation of phorate in amended soil. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2015;122:24-30.
15. Campbell-Platt G. control de alimentos. Blankson G, Osei-Fosu P, Adeendze E, Ashie D, editors. ghana2016.
16. Weselak M, Arbuckle TE, Foster W. Pesticide exposures and developmental outcomes: the epidemiological evidence. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 2007;10(1-2):41-80.
17. Delfino RT, Ribeiro TS, Figueroa-Villar JD. Organophosphorus compounds as chemical warfare agents: a review. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2009;20:407-28.
18. Organophosphorus poisoning (acute). *BMJ Clin Evid*. 2007;2007.
19. Vale JA. Toxicokinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus (OP) insecticide poisoning. *Toxicol Lett*. 1998;102-103:649-52.
20. Durán-Lara EF, Marple JL, Giesen JA, Fang Y, Jordan JH, Godbey WT, et al. Investigation of Lysine-Functionalized Dendrimers as Dichlorvos Detoxification Agents. *Biomacromolecules*. 2015;16(11):3434-44.
21. Lionetto MG, Caricato R, Calisi A, Giordano ME, Schettino T. Acetylcholinesterase as a biomarker in environmental and occupational medicine: new insights and future perspectives. *Biomed Res Int*. 2013;2013:321213.
22. Durán-Lara EF, Ávila-Salas F, Galaz S, John A, Maricán A, Gutiérrez M, et al. Nano-Detoxification of Organophosphate Agents by PAMAM Derivatives. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2015;26:580-91.
23. Gupta VK, Ali I, Saleh TA, Nayak A, Agarwal S. Chemical treatment technologies for waste-water recycling—an overview. *RSC Advances*. 2012;2(16):6380-8.
24. Wexler P. *Enciclopedia de Toxicología*. Mortensen SRS, T.L., editor. London2014.
25. Rehman T, Khan MM, Shad MA, Hussain M, Oyler BL, Goo YA, et al. Detection of Carbofuran-Protein Adducts in Serum of Occupationally Exposed Pesticide Factory Workers in Pakistan. *Chemical Research in Toxicology*. 2016;29(10):1720-8.

26. Izquierdo EP. Nanohidrogeles con respuesta a estímulos del microambiente tumoral para vehiculización del paclitaxel. 2017.
27. García JE, Zaldivar D, Katime I. HIDROGELES. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS EN EL DISEÑO DE SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS. Iberoamericana Polímeros 2002.
28. Kopecek J. Hydrogel biomaterials: a smart future? *Biomaterials*. 2007;28(34):5185-92.
29. Marican A, Avila-Salas F, Valdés O, Wehinger S, Villaseñor J, Fuentealba N, et al. Rational Design, Synthesis and Evaluation of γ -CD-Containing Cross-Linked Polyvinyl Alcohol Hydrogel as a Prednisone Delivery Platform. *Pharmaceutics*. 2018;10(1).
30. paz Ndl, Pérez D, Fernández M, López OD, nogueira A, Paneque MR, et al. EVALUACIÓN VISCOSIMÉTRICA DEL QUITOSANO DERIVADO DE LA QUITINA DE LANGOSTA Iberoamericana de Polímero. 2013.
31. Giri TK, Thakur A, Alexander A, Ajazuddin, Badwaik H, Tripathi DK. Modified chitosan hydrogels as drug delivery and tissue engineering systems: present status and applications. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2012;2(5):439-49.
32. HERNÁNDEZ WA, BOHÓRQUEZ NV. INCLUSIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS EN MATRICES POLIMÉRICAS DE QUITOSANO Y SU EFECTO EN LAS PROPIEDADES DE PELÍCULA. DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA. 2014.
33. Echeverri CE, Vallejo C, Londoño ME. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE HIDROGELES DE ALCOHOL POLIVINÍLICO POR LA TÉCNICA DE CONGELAMIENTO/DESCONGELAMIENTO PARA APLICACIONES MÉDICAS. *Revista EIA*. 2009(12):59-66.
34. Avila-Salas F, Marican A, Villaseñor J, Arenas-Salinas M, Argandoña Y, Caballero J, et al. In-Silico Design, Synthesis and Evaluation of a Nanostructured Hydrogel as a Dimethoate Removal Agent. *Nanomaterials (Basel)*. 2018;8(1).
35. González-Rodríguez ML, Holgado MA, Sánchez-Lafuente C, Rabasco AM, Fini A. Alginate/chitosan particulate systems for sodium diclofenac release. *Int J Pharm*. 2002;232(1-2):225-34.
36. Schanuel FS, Raggio Santos KS, Monte-Alto-Costa A, de Oliveira MG. Combined nitric oxide-releasing poly(vinyl alcohol) film/F127 hydrogel for accelerating wound healing. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2015;130:182-91.

37. Zou Y, Zhai A. Mejora de GC / MS de Pesticidas de tomate con Agilent Sílice Desactivada Tubing 2015.
38. Andrés MRA, Inés A, Pablo RD. Optimización multivariable de la extracción con solvente presurizado de alquilfenoles y etoxilatos de alquilfenol a partir de biosólidos. 2012.
39. Carrasco-Sánchez V, John A, Marican A, Santos LS, Laurie VF. Removal of 4-Ethylphenol and 4-Ethylguaiacol with Polyaniline-Based Compounds in Wine-Like Model Solutions and Red Wine. *Molecules*. 2015;20(8):14312-25.
40. Valdés O, Ávila-Salas F, Marican A, Fuentealba N, Villasenor J, Arenas-Salinas M, et al. Eliminación de metamidofos de soluciones acuosas usando un super adsorbente basado en hidrogel de poli (alcohol vinílico) reticulado. *Diario de la ciencia del polímero aplicado*. 2018.