



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES
CENTRO DE FÍSICA APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA

**ANÁLISIS ELÉCTRICO Y CARACTERIZACIÓN DE
BIOPOLÍMEROS INSOLUBLES EN ÁLCALI OBTENIDOS A
PARTIR DE PARED CELULAR FÚNGICA**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES

PRESENTA:

Ing. Eduardo Abel Alarcon Flores

TUTORA PRINCIPAL:

Dra. Blanca Edith Millán Chiu

INVESTIGADORA POR MÉXICO-CENTRO DE FÍSICA APLICADA
Y TECNOLOGÍA AVANZADA

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

M. en C. Francisco Fernández Escobar

CENTRO DE FÍSICA APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA

Dr. Alberto Rosas Aburto

FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM



C F A T A

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, FEBRERO, 2025



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

Al amor de mi vida, Lili. Fuiste testigo y partícipe de esta travesía, tu ayuda y compañía fueron de vital importancia para seguir adelante.

A mi familia, por sus palabras de apoyo y curiosidad que me motivaron a mejorar mi forma de entender y explicar la ciencia.

AGRADECIMIENTOS

A mi comité tutor; Dra. Blanca Edith Millán Chiu, M. en C. Francisco Fernández Escobar y Dr. Alberto Rosas Aburto por su guía, enseñanza y apoyo constante.

Al Dr. Achim Max Loske Mehling por sus comentarios valiosos y su apoyo en la revisión de este trabajo.

A la laboratorista Paula Bernardino Peláez, por su apoyo en la preparación de experimentos.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), al Posgrado en Ciencia e Ingeniería de Materiales (PCEIM) y al Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA), por brindarme la oportunidad y las herramientas para realizar este proyecto y desarrollarme como posgraduado en la ciencia.

Al Laboratorio Nacional de Caracterización de Materiales (LANCAM) y a la Unidad de Proteogenómica del Instituto de Neurobiología (INB) por sus servicios para las caracterizaciones y pruebas realizadas en este proyecto.

A la Facultad de Química-UNAM, por los fondos de investigación otorgados al Dr. Eduardo Vivaldo Lima (PAIP 5000-9078) y al Dr. Alberto Rosas Aburto (PAIP 5000-9167). A los proyectos DGAPA-UNAM: PAPIIT IG100122 (otorgado al Dr. Eduardo Vivaldo Lima) y PAPIIT IT103123 (otorgado al Dr. Alberto Rosas Aburto), así como al proyecto de Ciencia Básica A1-S-21130 provisto por el CONAHCyT. Fondos empleados en la adquisición de equipos de caracterización e insumos que fueron utilizados en este proyecto.

Al Programa de Apoyo a Estudios de Posgrado (PAEP), por el apoyo para las estancias y congresos que surgieron en torno al presente proyecto.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT, México), por la beca (No. de CVU 1051215) de maestría que me fue otorgada.

Un agradecimiento especial para David V. Peterson, fundador de Cadena de Ayuda. Tu apoyo y amistad durante mi formación de licenciatura sigue vigente hasta ahora y en mis logros futuros, y por ello siempre te lo agradeceré.

**Posgrado en Ciencia e Ingeniería de Materiales – UNAM
Acuerdo del Comité Académico del 28 de junio de 2023**

Declaración de Autoría

Yo, Eduardo Abel Alarcon Flores, hago constar que esta tesis titulada, "Análisis Eléctrico y Caracterización de Biopolímeros Insolubles en Álcali Obtenidos a Partir de Pared Celular Fúngica" y el trabajo presentado en ella son de mi autoría, asimismo,

Yo confirmo que:

Este trabajo fue hecho totalmente durante el periodo de mis estudios de Maestría en el Posgrado en Ciencia e Ingeniería de Materiales (PCeIM) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Ninguna parte del presente trabajo ha sido usada para algún tipo de grado o certificación en la UNAM, ni en alguna otra Institución.

Cuando se ha citado el trabajo de otros autores, siempre se ha dado la fuente de origen. Con la excepción de dichas citas, la totalidad de la información contenida en el presente trabajo es de mi autoría.

He reconocido todas las fuentes de ayuda usadas en este trabajo.

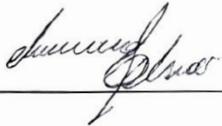
Cuando el trabajo fue hecho en colaboración con otros, he especificado cuáles fueron sus contribuciones.

Afirmo que el material presentado no se encuentra protegido por derechos de autor y me hago responsable de cualquier reclamo relacionado con la violación de derechos de autor.

Hago constar que el trabajo que presento es de mi autoría y que todas las ideas, citas textuales, datos, ilustraciones, gráficas, etc., sacados de cualquier obra o debidas al trabajo de terceros, han sido debidamente identificados y citados en el cuerpo del texto y en la bibliografía.

Acepto que, en caso de no respetar lo anterior puedo ser sujeto de sanciones universitarias.

Nombre Alumno: Eduardo Abel Alarcon Flores

Firma: 

Nombre del Tutor: Dra. Blanca Edith Millán Chiu

Firma: 

Fecha: 15/10/2024



**PROTESTA UNIVERSITARIA DE INTEGRIDAD Y
HONESTIDAD ACADÉMICA Y PROFESIONAL
(Graduación con trabajo escrito)**

De conformidad con lo dispuesto en los artículos 87, fracción V, del Estatuto General, 68, primer párrafo, del Reglamento General de Estudios Universitarios y 26, fracción I, y 35 del Reglamento General de Exámenes, me comprometo en todo tiempo a honrar a la Institución y a cumplir con los principios establecidos en el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente con los de integridad y honestidad académica.

De acuerdo con lo anterior, manifiesto que el trabajo escrito titulado:

**ANÁLISIS ELÉCTRICO Y CARACTERIZACIÓN DE BIOPOLÍMEROS INSOLUBLES EN ÁLCALI OBTENIDOS
A PARTIR DE PARED CELULAR FÚNGICA**

que presenté para obtener el grado de -----Maestría----- es original, de mi autoría y lo realicé con el rigor metodológico exigido por mi programa de posgrado, citando las fuentes de ideas, textos, imágenes, gráficos u otro tipo de obras empleadas para su desarrollo.

En consecuencia, acepto que la falta de cumplimiento de las disposiciones reglamentarias y normativas de la Universidad, en particular las ya referidas en el Código de Ética, llevará a la nulidad de los actos de carácter académico administrativo del proceso de graduación.

Atentamente

Eduardo Abel Alarcon Flores
No. de cuenta: 52301753-6

(Nombre, firma y Número de cuenta de la persona alumna)

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1. <i>ASPERGILLUS NIGER</i>	5
2.2. PARED CELULAR FÚNGICA.....	5
2.2.1. <i>Polisacáridos estructurales</i>	6
2.2.2. <i>Polisacáridos de decoración</i>	10
2.2.3. <i>Pigmentos</i>	10
2.2.4. <i>Proteínas</i>	11
2.3. SOLUBILIDAD EN SOLUCIONES ALCALINAS	11
2.4. EXTRACCIÓN QUÍMICA ASISTIDA	12
2.5. ONDAS DE CHOQUE	13
2.5.1. <i>Cavitación acústica</i>	15
2.5.2. <i>Ondas de choque tándem</i>	15
2.6. PROPIEDADES ELÉCTRICAS	16
3. ANTECEDENTES	24
4. JUSTIFICACIÓN	26
5. HIPÓTESIS	27
6. OBJETIVOS	28
6.1. OBJETIVO GENERAL.....	28
6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
6.2.1. <i>Obtención de películas</i>	28
6.2.2. <i>Caracterización fisicoquímica</i>	28
6.2.3. <i>Análisis eléctrico</i>	29
7. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	30
7.1. ESQUEMA EXPERIMENTAL	30
7.2. LISTA DE REACTIVOS.....	31
7.3. OBTENCIÓN DE PELÍCULAS.....	31
7.3.1. <i>Cultivo sumergido</i>	31
7.3.2. <i>Recuperación de masa fúngica</i>	32
7.3.3. <i>Extracción del CQG asistido por ondas de choque</i>	33
7.3.4. <i>Formación de las películas</i>	36
7.4. CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA.....	36
7.4.1. <i>Cuantificación de proteínas</i>	36
7.4.2. <i>Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier</i>	37
7.4.3. <i>Análisis termogravimétrico</i>	38
7.4.4. <i>Determinación de peso molecular mediante reología</i>	38
7.4.5. <i>Microscopía electrónica de barrido</i>	39

7.4.6. Difracción de rayos X	39
7.5. CARACTERIZACIÓN ELÉCTRICA	40
7.5.1. Montaje experimental para la caracterización eléctrica del complejo quitina-glucano.....	40
7.5.2. Propagación de incertidumbres y prueba del montaje experimental.....	46
7.5.3. Medición de resistividad y rompimiento eléctrico	48
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
8.1. CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS	50
8.2. ANÁLISIS DE ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA POR TRANSFORMADA DE FOURIER	51
8.2.1. Identificación de grupos funcionales y huella molecular	51
8.2.2. Grado de acetilación.....	55
8.2.3. Determinación de tipo polimórfico	56
8.3. ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO	57
8.3.1. Estabilidad térmica	57
8.4. PESO MOLECULAR EN VISCOSIDAD.....	60
8.5. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO: MORFOLOGÍA DE LAS PELÍCULAS	62
8.6. ANÁLISIS POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X	63
8.6.1. Identificación de planos cristalográficos	63
8.6.2. Tipo polimórfico de quitina.....	65
8.6.3. Índice de cristalinidad	66
8.7. ANÁLISIS ELÉCTRICO	67
8.7.1. Prueba del montaje experimental	68
8.7.2. Rompimiento eléctrico.....	69
8.7.3. Resistividad eléctrica	74
9. CONCLUSIONES.....	77
10. PERSPECTIVAS.....	79
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
ANEXO	86

RESUMEN

En los últimos años, los biopolímeros han generado un gran interés en la electrónica debido a su potencial para ayudar a mitigar la problemática ambiental que presentan los desperdicios electrónicos. La quitina es el segundo biopolímero más abundante, encontrándose como un polímero estructural en el exoesqueleto de artrópodos y en la pared celular de hongos, donde la quitina forma un complejo polimérico con glucanos, conocido como complejo quitina-glucano (CQG). Si bien el uso de la quitina de crustáceos se ha explorado para aplicaciones en electrónica, poco se ha estudiado sobre el CQG. Estudios preliminares, donde se estableció un método para extraer CQG utilizando ondas de choque, muestran que el CQG es un aislante cuya resistencia depende del voltaje aplicado (VDR, por sus siglas en inglés). En este trabajo se estudiaron las propiedades fisicoquímicas, se analizó el comportamiento VDR y se determinó el rompimiento eléctrico de películas de CQG (~ 20 μm de espesor), obtenidas de la pared celular del hongo *Aspergillus niger*, mediante extracción química asistida por ondas de choque. El CQG estuvo conformado por quitina-quitosano con estructura polimórfica α y 31.5 % de grado de acetilación (DA, por sus siglas en inglés), glucanos β -1,3 y 1,6, residuos lipídicos y un contenido de proteínas del 6.56 % en peso. Este presentó un peso molecular en viscosidad (M_v) de 11.73 kDa, una estabilidad térmica hasta los 270.64 °C y un índice de cristalinidad (CI) del 43.54 %. También se demostró que las ondas de choque influyen en la morfología superficial de la pared celular de las hifas y permiten remover hasta un 11.96 % más de proteína. Por otro lado, las películas de CQG presentaron el comportamiento VDR para voltajes entre 100 y 800 V, y un rompimiento eléctrico de 332.62 ± 87.43 kV/cm, que aumenta hasta 378.27 ± 99.13 kV/cm para películas sin tratamiento de ondas de choque.

ABSTRACT

In recent years, biopolymers have generated significant interest in electronics due to their potential to reduce the environmental impact of hazardous electronic waste. Chitin is the second most abundant biopolymer worldwide. It is found as a structural polymer in the exoskeleton of arthropods and in the cell wall of fungi, where it forms a polymeric complex with chitosan and glucans known as chitin glucan complex (CGC). Although the use of crustacean chitin has been explored in electronic applications, little has been studied about CGC. Preliminary studies, where a method to extract CGC using shock waves was established, show that CGC is an insulator with resistance that varies depending on the applied voltage (VDR). In this work, the physicochemical properties, VDR behavior, and dielectric breakdown of CGC films obtained by chemical extraction assisted by shock waves from the cell wall of the fungus *A. niger* were studied. Consequently, films with a thickness of approximately 20 μm were obtained. The characterizations showed that they are constituted by chitin-chitosan with a polymorphic α structure, and a 31.5 % degree of acetylation (DA), β - 1,3 and 1,6 glucans, lipid residues and a protein content of 6.56 % wt. The obtained CGC had a molecular weight in viscosity (Mv) of 11.73 kDa, thermal stability up to 270.64 $^{\circ}\text{C}$ and a crystallinity index (CI) of 43.54 %. It was also shown that shock waves influence the morphology of the cell surface in the hypha and reduce the protein content by up to 11.96 %. On the other hand, the CGC films exhibited the expected VDR behavior for voltages between 100 and 800 V and demonstrated an electrical breakdown of 332.62 ± 87.43 kV/cm, which increased to 378.27 ± 99.13 kV/cm for films without shock wave treatment.

1. INTRODUCCIÓN

Los hongos han sido aprovechados por milenios para el beneficio de la humanidad. Desde el periodo neolítico (7000 – 1700 a. C.) se utilizaban en la fermentación de bebidas y alimentos como la cerveza, el vino y el pan. Actualmente son usados en la industria para la producción de enzimas, proteínas recombinantes, antibióticos y ácidos orgánicos, entre otros (Mishra, Singh, & Singh, 2024).

En muchos de los procesos para obtener bioproductos derivados de hongos, la biomasa es desaprovechada. En esta se encuentran polisacáridos y proteínas de interés que podrían ser útiles para diversas aplicaciones. Un polisacárido, componente de la estructura principal de la pared celular de los hongos, es la quitina, conformada por unidades de N-acetil glucosamina unidas mediante enlaces glucosídicos β -(1,4). Después de la celulosa, es el polisacárido más abundante en la naturaleza. Comúnmente, la quitina se encuentra en el exoesqueleto de crustáceos, artrópodos, algunas algas y en la pared celular de hongos.

La obtención de quitina pura es un proceso difícil, donde la extracción, dependiendo de la fuente, implica la remoción de proteínas, minerales, pigmentos y otros polisacáridos que en muchas ocasiones están ligadas por enlaces covalentes a la quitina. La quitina de crustáceos se extrae como un complejo con proteínas que pueden causar alergias, principalmente en aplicaciones cosméticas y en alimentos.

En los hongos filamentosos, la quitina se obtiene como parte de un complejo con glucanos, obteniendo así un copolímero que combina la rigidez estructural de la quitina con la flexibilidad de los glucanos, además de su propiedad hipoalergénica.

En términos de producción, las características de la quitina extraída de crustáceos dependen de las temporadas y las condiciones ambientales en las que se desarrollan estos organismos, las cuales son difíciles de controlar. Por el contrario, las condiciones de crecimiento de los hongos pueden ser controladas con mayor facilidad, permitiendo una producción continua.

Debido a las propiedades de la quitina como biodegradabilidad, no toxicidad y biocompatibilidad existe un gran interés en aprovecharla como recurso, principalmente en la formación de películas. Sin embargo, el proceso para lograr esto requiere de disolver el polímero, una tarea complicada de realizar con la quitina seca y pura, ya que los enlaces inter e intramoleculares que presenta el polisacárido en su ordenamiento cristalino, dificultan su disolución en la mayoría de los solventes comunes. Para superarlo, se modifica la estructura química, siendo la desacetilación el proceso más común, generando quitosano, el derivado más utilizado de la quitina. Esta modificación implica la disminución de la cantidad de grupos N-acetilados en las cadenas poliméricas hasta menos de un 50 %, permitiendo que, dependiendo del peso molecular y grado de acetilación, se pueda solubilizar en intervalos distintos de pH.

Recientemente se logró la obtención de películas de quitina-glucano a partir del hongo *A. niger*, sin necesidad de una modificación química posterior, empleando una técnica sencilla de extracción química asistida por ondas de choque (Ortiz-Olan, 2022). En ese trabajo, las películas presentaron propiedades eléctricas interesantes; entre ellas, se encontró un comportamiento de resistividad eléctrica dependiente del voltaje, particularmente cuando se aplicaron valores elevados de voltaje (entre 10 y 20 kV), comportamiento que no se había reportado anteriormente en un biopolímero (Millán-Chiu, et al., 2023). Una película con tales propiedades puede ser de gran interés en los campos de la electricidad y la electrónica, tanto para el desarrollo de componentes electrónicos biodegradables, como para la innovación de otros dispositivos, tales como los varistores de alto voltaje y los nanogeneradores piezoeléctricos o triboeléctricos (PENGs o TENGs respectivamente, por sus siglas en inglés).

Este trabajo se enfocó en la evaluación de las propiedades fisicoquímicas y eléctricas de las películas de quitina de hongos extraídas por un método químico asistido por ondas de choque. Se efectuaron análisis dirigidos al conocimiento de su estructura cristalina, estabilidad térmica, morfología, peso molecular, conformación química y grado de acetilación, así como en lo referente a sus propiedades eléctricas, evaluando el rompimiento eléctrico y el comportamiento de tipo varistor con voltajes menores a 1000 V.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. *Aspergillus niger*

Los hongos son organismos eucariontes pertenecientes al reino Fungi. Son muy abundantes en la naturaleza y se estima que existen entre 2.2 y 3.8 millones de especies repartidas en siete filos y cuatro subfilos (Hawksworth & Lücking, 2017). Se caracterizan por alimentarse de los desechos de otros organismos por medio de exoenzimas, absorbiendo nutrientes por ósmosis (saprotrfia), además de reproducirse tanto sexual como asexualmente, utilizando propágulos (esporas y conidios). Estructuralmente poseen una pared celular conformada principalmente por quitina (Volk, 2013; Aswani, Soni, & Radhakrishnan, 2024).

Un hongo filamentoso aprovechado en la industria es la especie *A. niger*, existente en todo el mundo. Morfológicamente está constituido por un cuerpo pluricelular en forma de filamentos microscópicos llamados hifas, que al extenderse y crecer en conjunto conforman un micelio (Bueno & Silva, 2014).

A. niger es un organismo comúnmente causante de la descomposición de alimentos. Sin embargo, también es importante en la industria alimenticia, al ser empleado junto con *A. oryzae* y *A. sojae* para la fermentación de la salsa de soya (Liu, et al., 2024). También es el productor principal de ácido cítrico a nivel mundial, gracias a su gran capacidad de fermentación de azúcares crudos (Koul & Farooq, 2020) (Cairns, Nai, & Meyer, 2018). En la producción de ácido cítrico, la masa fúngica es descartada mediante filtración, dejando un área de oportunidad para aprovecharla por medio de la extracción de componentes de la pared celular del hongo (Shahlaei & Pourhossein, 2013; Cabrera-Barjas, et al., 2020).

2.2. Pared celular fúngica

La pared celular fúngica es una estructura dinámica de protección contra factores ambientales como cambios de temperatura, desecación, estrés osmótico y competencia biológica con otros microorganismos (Brauer, et al., 2023). Está conformada por una matriz tridimensional de complejos poliméricos y proteicos (Free, 2013), como se ejemplifica en la figura 1, con el hongo *A. niger*. La composición precisa de la pared celular varía con respecto a la especie, cepa y etapa de crecimiento (Free, 2013; Feofilova, et al., 2006).

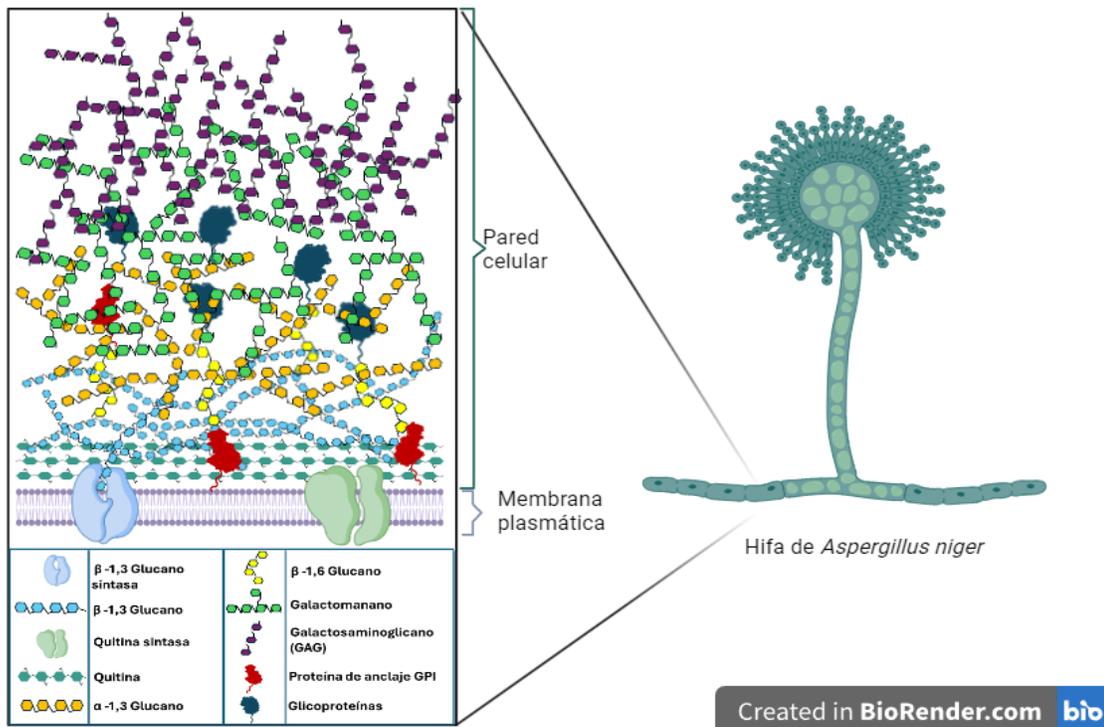


Figura 1. Representación gráfica de los componentes de la pared celular fúngica de la hifa del ascomiceto *A. niger*. Creado con BioRender.com.

Los componentes principales de la pared celular en la mayoría de las especies de hongos son tanto polisacáridos estructurales, que funcionan como andamios moleculares para los demás componentes, como polisacáridos de decoración que permiten la conexión entre estructuras con proteínas y pigmentos que protegen al hongo de la radiación UV (García-Rubio, et al., 2020).

2.2.1. Polisacáridos estructurales

Los polisacáridos estructurales son biomoléculas que, como dice su nombre, dan estructura a la pared celular. Son sintetizados inmediatamente después de la membrana, en su cara externa, por lo que su localización más abundante es en la base de la pared celular (Liu, Luo & Rao, 2023). Además, son importantes para la morfología del hongo y pueden funcionar como base de anclaje para otros componentes. Comúnmente, los polisacáridos estructurales son la quitina y el β -(1,3) glucano, el cual puede encontrarse ramificado con β -(1,6) glucano (Gow, et al., 2017).

2.2.1.1. Quitina y quitosano

La quitina es un biopolímero conformado por unidades de N-acetil-D-glucosamina unidas mediante enlaces glucosídicos β -(1,4) (ver figura 2a). Tiene la característica de ser insoluble en una gran cantidad de solventes, ya que la presencia de sus grupos acetamida generan estructuras cristalinas resistentes (Wan & Tai, 2013). En la pared celular de los hongos, los grupos acetil de la quitina pueden removerse mediante enzimas especializadas llamadas desacetilasas. El porcentaje de grupos acetilados se mide en términos de su grado de acetilación (DA, por sus siglas en inglés). Si la quitina presenta un DA < 50 % se le nombra quitosano (ver figura 2b). Este es el derivado más común de la quitina y puede disolverse con mayor facilidad que la quitina, debido a la pérdida de una gran cantidad de grupos acetilo (Blagodatskikh, et al., 2017).

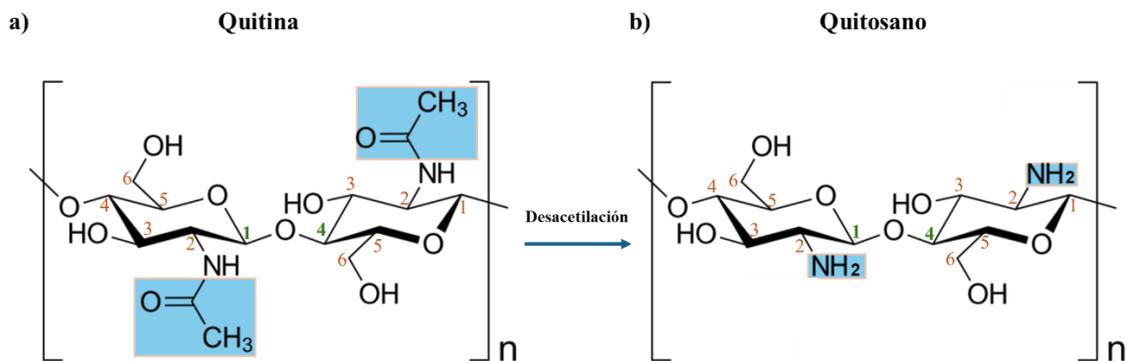


Figura 2. Representación de las unidades monoméricas de la quitina y el quitosano mediante conformación de silla. a) Unidad monomérica de la quitina, resaltando en azul sus grupos acetilamida. b) Unidad monomérica del quitosano, resaltando sus grupos amida como resultado de la desacetilación de la quitina.

La quitina no se encuentra con un DA de 100 % en la naturaleza, por lo que estrictamente es un copolímero con unidades monoméricas de N-acetilglucosamina (figura 2a) y N-glucosamida (figura 2b) en diferentes proporciones. Dependiendo del DA y del peso molecular, la quitina puede presentar variaciones en sus propiedades fisicoquímicas (Crini, 2022).

Estructuralmente, la quitina se encuentra organizada en forma de fibras, con tres posibles estructuras cristalinas distintas (polimorfos), llamadas α , β y γ , dependiendo de la orientación de sus cadenas poliméricas y de los enlaces de hidrógeno que formen (figura 3) (Ogawa, Yui, & Okuyama, 2004). El polimorfo α está constituido por cadenas de quitina con enlaces de hidrógeno en la misma cadena polimérica (intra-cadena) y con cadenas adyacentes (inter-cadena),

teniendo un orden antiparalelo. El polimorfo β solo presenta enlaces de hidrógeno intra-cadena, con sus cadenas ordenadas de forma paralela (Nishiyama, Noishiki, & Wada, 2011). Finalmente, el polimorfo γ presenta un arreglo combinado de ambos polimorfos α y β , teniendo un par de cadenas paralelas y una antiparalela de manera consecutiva (Kaya, et al., 2017). La quitina de hongos reportada en la literatura presenta mayormente el polimorfo α , aunque en algunas especies se ha reportado el polimorfo γ (Fernando, et al., 2021). Para el caso particular del hongo *A. niger*, se ha reportado que el tipo polimórfico de la quitina es α (Farinha, et al., 2015).

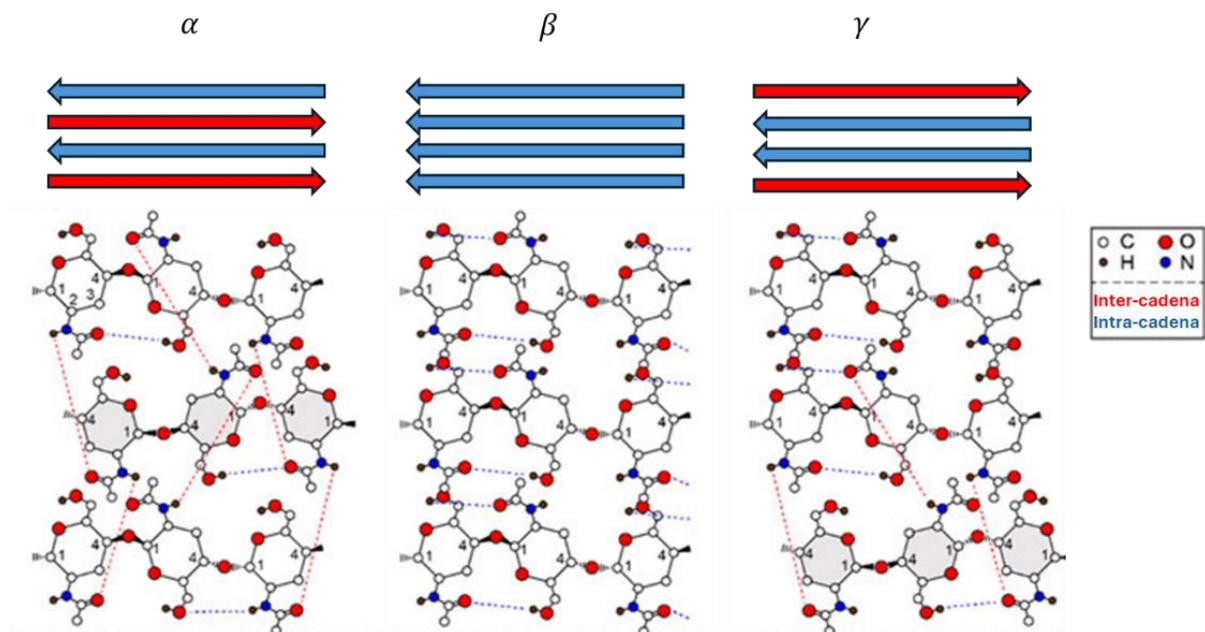


Figura 3. Representación de los tipos polimórficos de la quitina. Imagen modificada de Fernando et al. 2021.

2.2.1.2. β -(1,3/1,6) glucano

El β -(1,3) glucano es un polisacárido conformado por unidades de glucosa unidas mediante enlaces glucosídicos β -(1,3). Este puede encontrarse en cereales, bacterias, levaduras y hongos filamentosos. En la pared celular de los hongos suele formarse con cadenas de glucosa mediante ramificaciones con enlaces glucosídicos β -(1,6) (ver figura 4a y b) (Kang, et al., 2018).

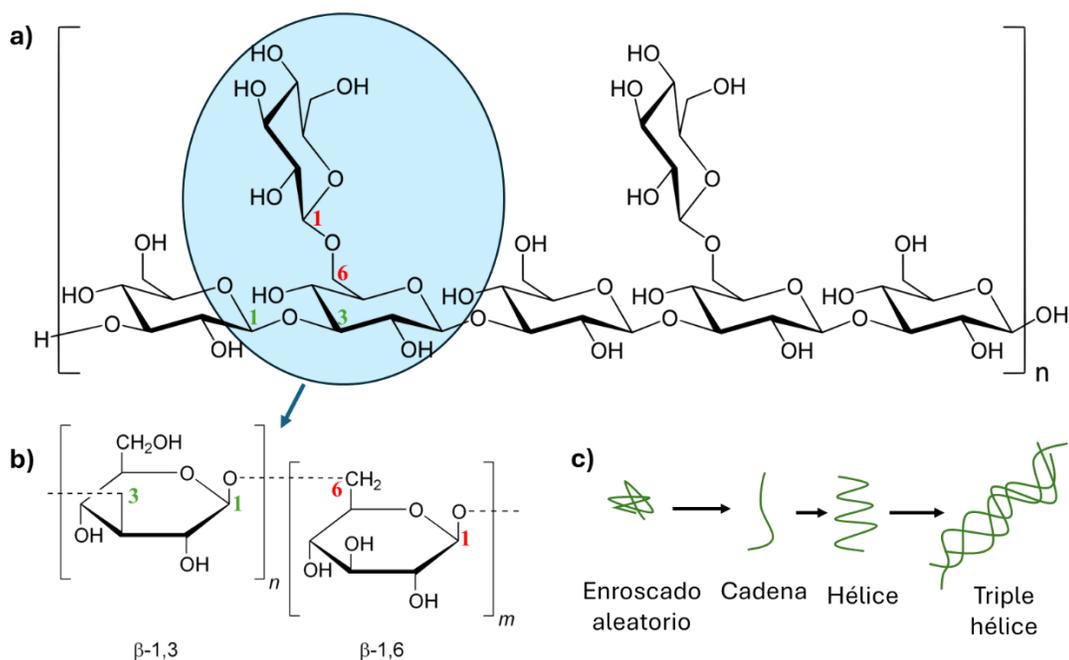


Figura 4. Representación de la estructura molecular del β -(1,3/1,6). a) La unidad monomérica del copolímero en proyección de Haworth y b) las estructuras conformacionales en que se pueden acomodar.

La estructura del β -(1,3) glucano sin ramificaciones puede estar conformada por diferentes estructuras (figura 4c). Las cadenas de β -glucano con pesos moleculares del orden de 10^4 Da presentan estructuras estables en forma de triple hélice. A menores pesos moleculares, la estructura es menos estable y puede estar conformada por una sola hélice o una cadena simple. Además, cuando el β -glucano se encuentra en soluciones alcalinas con $\text{pH} > 12$, soluciones de dimetilsulfóxido (DMSO) o al ser calentado por encima de su punto de fusión (135°C), la estructura se desnaturaliza y se queda enroscado de forma aleatoria (Manabe & Yamaguchi, 2021).

Al presentar ramificaciones con el β -(1,6) glucano, la conformación de triple hélice puede sufrir cambios de acuerdo con la longitud de las ramificaciones, la presencia de moléculas de agua y los enlaces de hidrógeno que se generen, comprimiendo las hélices y ladeándolas, incluso afectando su solubilidad (Manabe & Yamaguchi, 2021).

2.2.1.3. Complejo quitina-glucano

En la pared celular de los hongos, la quitina y el β -(1,3/1,6) glucano se encuentran enlazados covalentemente por un enlace glucosídico β -(1,4), formando así un copolímero conocido como CQG (figura 5).

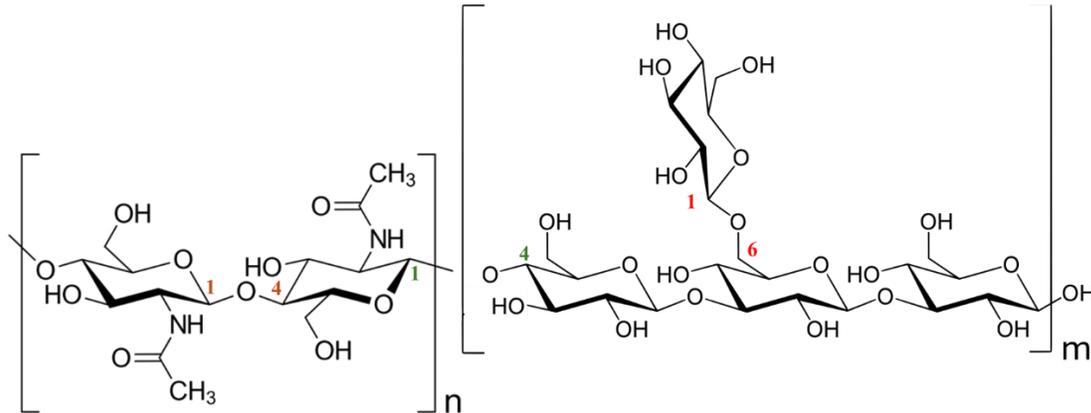


Figura 5. Representación de las unidades monoméricas del copolímero CQG, donde n y m son los grados de polimerización de cada monómero.

En la pared celular fúngica, la quitina, que tiene una mayor cristalinidad, provee de rigidez, mientras que el β -(1,3/1,6) glucano, más amorfo, da flexibilidad, de modo que la tasa de quitina/glucano varía dependiendo de las características mecánicas requeridas de acuerdo con la etapa de crecimiento del hongo (Feofilova, et al., 2006).

2.2.2. Polisacáridos de decoración

Los galactomananos, los glucanos α -(1,3) y β -(1,6) y los galactosaminoglicanos (GAG) son polisacáridos que en proporción con los estructurales son menos abundantes, pero ayudan a formar la pared celular enlazándose con otros polisacáridos o sirviendo como sustratos para proteínas (Gow, et al., 2017).

2.2.3. Pigmentos

El pigmento más común en hongos es la melanina. Se encuentran dos tipos: melanina 1,8 – dihidroxinaftaleno (DHN), encontrada usualmente en especies de *Aspergillus* y otros hongos patógenos con coloraciones negras; melanina 3,4 – dihidroxifenilalanina (DOPA), común en *Cryptococcus neoformans*. En ambos

casos, su función principal es proteger al hongo de la radiación de luz ultravioleta (Gow, et al., 2017).

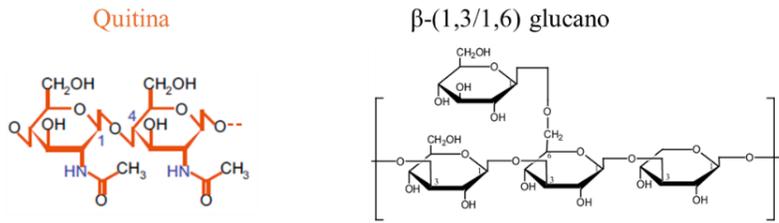
2.2.4. Proteínas

Una gran variedad de proteínas se encuentra en la pared celular de los hongos cumpliendo diversas funciones, como encargarse de la adhesión del hongo a distintos medios o sustratos, proteger la integridad de las células y construir y modificar los polisacáridos, entre otras. Las transglicosidasas (enzimas ancladas a la membrana plasmática o encontradas en la pared celular), por ejemplo, ayudan a entrecruzar, elongar y ramificar polisacáridos. Las hidrolasas y desacetilasas permiten regular las propiedades mecánicas de la pared celular al desacetilar quitina o hidrolizar β -glucanos (Adams, 2004).

2.3. Solubilidad en soluciones alcalinas

Una manera alternativa de clasificar a los componentes de la pared celular es según su solubilidad en disoluciones alcalinas (figura 6). La parte interna de la pared celular, principalmente conformada por los polisacáridos estructurales, es la fracción insoluble en álcali (FIA), mientras que la fracción soluble (FSA) está conformada por los polímeros de decoración y proteínas (Cantu, et al., 2009; Gu, et al., 2024). La FIA de *A. niger* está conformada por glucanos $\beta - (1,3)$ ramificados con $\beta - (1,6)$ a su vez, enlazados covalentemente a quitina, mientras que la fracción soluble en álcali contiene $\alpha - (1,3)$ glucanos, GAGs, galactomananos y proteínas de superficie.

Fracción Insoluble en Álcali (FIA)



Fracción Soluble en Álcali (FSA)

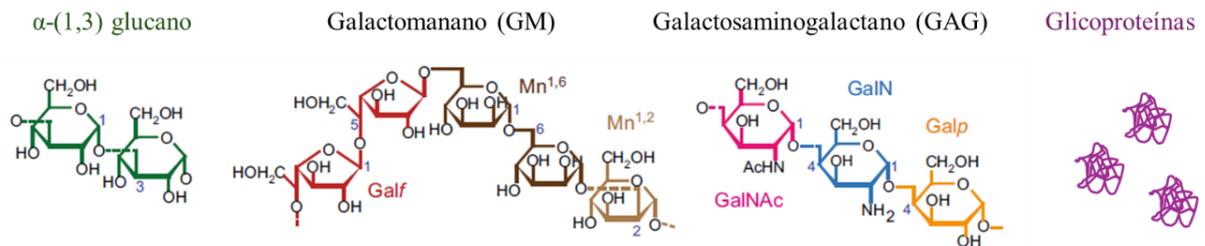


Figura 6. Representación de la estructura química de las biomoléculas que conforman la fracción insoluble y soluble en álcali de la pared celular fúngica. Imagen modificada de Kang, et al., 2018.

2.4. Extracción química asistida

La separación de componentes de la pared celular fúngica se logra mediante el empleo de disoluciones alcalinas. Para ello se han desarrollado procedimientos variados.

De manera general, el proceso de extracción química del CQG consiste en triturar la masa fúngica, para posteriormente tratarla con una solución de hidróxido de sodio (NaOH), utilizando molaridades diferentes (desde 1 hasta 6M), en conjunto con un tratamiento con calor que propicia la remoción de proteínas. La FIA se recupera por centrifugación y es neutralizada. El producto resultante consiste en el complejo polimérico CQG (Farinha, et al., 2015), al cual puede aplicarse otro tratamiento químico para remover pigmentos de ser necesario (Khayrova, Lopatin, & Varlamov, 2021).

Para facilitar la extracción del CQG se aprovecha una variedad de técnicas físicas. En la primera etapa de extracción se emplean técnicas de molienda o trituración para pulverizar y homogenizar la masa fúngica, tales como el molino de bolas o licuadoras industriales. También se ha empleado el calentamiento con microondas, junto con otros catalizadores o solventes para facilitar la remoción

de proteínas y minerales (Cano-Gonzalez, et al., 2021). Además, el uso de ultrasonido, en conjunto con un postratamiento de carboximetilación del CQG, ha permitido despolimerizar el complejo (Machová, et al., 1999).

Recientemente se han empleado ondas de choque mecánicas, generadas, propagadas y focalizadas en agua durante el tratamiento alcalino, ya que estas permiten disgregar la masa fúngica y permean las paredes celulares por efecto de los microchorros de líquido provocados por la cavitación acústica, según se describe en los apartados siguientes. Estas alteraciones físicas en la biomasa pueden ayudar a que el NaOH actúe de manera más eficiente para remover la FSA (Ortiz-Olan, 2022).

2.5. Ondas de choque

Lo que comúnmente se conoce como ondas de choque (mecánicas), más bien son frentes de choque repetitivos y cada uno de ellos se genera por una liberación abrupta de energía, la cual se propaga a través del medio y es caracterizada por un frente de onda que presenta una compresión elevada de muy corta duración (del orden de μs), seguida de una disminución de presión (dilatación o rarefacción) que alcanza valores inferiores a la presión de equilibrio (P_0), a la que finalmente regresa y se estabiliza con el tiempo (ver figura 7). A su paso, el frente de choque ejerce cambios en las propiedades termodinámicas del medio, como son la presión, el volumen y la temperatura (Loske, 2011; Ji, Wang & He, 2016).

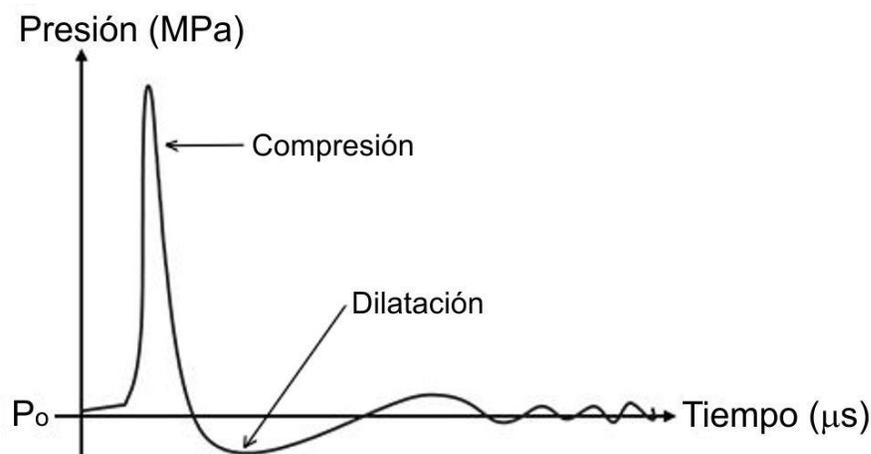


Figura 7. Representación gráfica de un frente de choque.

En lo sucesivo se mantendrá el término “ondas de choque” para dichos frentes de choque repetitivos, o se usarán indistintamente sus singulares respectivos (“onda de choque” para aludir sólo un frente de choque). También cabe mencionar que las aplicaciones de las ondas de choque en medicina y biotecnología se hacen generalmente en agua, porque la impedancia acústica de esta es muy similar a la de la mayoría de los organismos biológicos, lo que permite asegurar que dichas ondas no presentan cambios significativos en su dirección de propagación al atravesar materia blanda.

La dirección de propagación de una onda de choque depende primordialmente de la geometría con que se haga la liberación abrupta de energía que la causa, lo que a su vez puede implicar convergencia o divergencia de la energía transportada, además de la que se invierte en su propagación (vibración del medio). Como un ejemplo de lo anterior, un explosivo muy pequeño detonado en un relativo gran volumen de agua se considera como una fuente energética puntual y la onda de choque generada tiene forma esférica con dirección de propagación radial y consecuente divergencia de la energía transportada.

En este trabajo se ha usado un emisor de ondas de choque de tipo piezoeléctrico (Loske, 2007), que básicamente está formado por un arreglo de alrededor de 3000 pequeños cristales piezoeléctricos, todos conectados en paralelo y montados sobre la superficie cóncava de un sector esférico de aluminio, la cual está finalmente cubierta con un polímero aislante y flexible, ya que constituye el fondo de una tina con el agua que sirve de medio de propagación a las ondas de choque (ver figura 8, lado derecho).

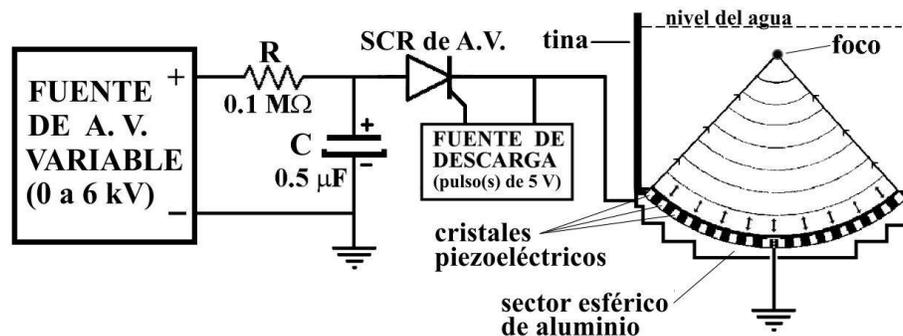


Figura 8. Generación de ondas de choque por el método piezoeléctrico. El rectificador de silicio controlado (SCR, por sus siglas en inglés) transfiere a los cristales piezoeléctricos el alto voltaje almacenado en el capacitor C, cuando es activado por la fuente de descarga mediante pulsos de 5 V. Esquema creado por el M. en C. Francisco Fernández Escobar.

Cuando a dichos cristales se les aplica un alto voltaje (A.V.), previamente almacenado en un capacitor (C), éstos se expanden súbitamente y regresan a su estado original, produciendo en el agua que tienen encima una compresión seguida de dilatación, que es el frente de choque. Como este se origina por el movimiento abrupto de la superficie del sector esférico, la energía transmitida viaja en el agua con la misma geometría y converge al centro del esferoide (también llamado foco), lográndose ahí presiones muy altas (hasta casi 100 MPa), cuya magnitud es controlada por la fuente de A.V. variable que carga a C a través de la resistencia R.

2.5.1. Cavitación acústica

En el agua donde se propagan las ondas de choque, generalmente hay aire disperso formando burbujas difícilmente detectables a simple vista. Cuando una onda de choque concentrada llega a su región focal, el semiciclo de compresión actúa sobre las burbujas ahí existentes, reduciendo su volumen e incrementando enormemente la presión del aire en su interior; lo que se conoce como el colapso forzado de las burbujas. Con el paso de la onda, su semiciclo de dilatación disminuye drásticamente la presión en el exterior de las burbujas, mientras que la presión interna es muy grande, lo cual provoca su expansión, llegando a alcanzar hasta más de cien veces su tamaño original, durando en ese estado algunos cientos de microsegundos, hasta que la presión hidrostática del agua se reestablece y recupera su valor inicial. Por esto último, las burbujas expandidas sufren colapsos inerciales violentos y asimétricos, que generan microchorros de agua a alta velocidad (~ 700 m/s), así como ondas de choque secundarias locales con relativa poca amplitud (Philipp, et al., 1993). A este fenómeno físico se le conoce como cavitación acústica (Khavari, et al., 2023; Martínez-Maldonado, et al., 2024) y se ilustra en la figura 9a del apartado siguiente.

2.5.2. Ondas de choque tándem

El colapso inercial de las burbujas de cavitación ocurre a un tiempo entre 200 y 400 μ s después de su colapso forzado. Si una segunda onda de choque es aplicada en el momento en que inicia dicho colapso inercial, este será reforzado y consecuentemente el microchorro de agua emitido tendrá mayor potencia (ver figura 9b). El uso de estas dos ondas de choque casi simultáneas, se conoce como sistema tándem (Martínez-Maldonado, et al., 2024; Lukes, et al., 2016).

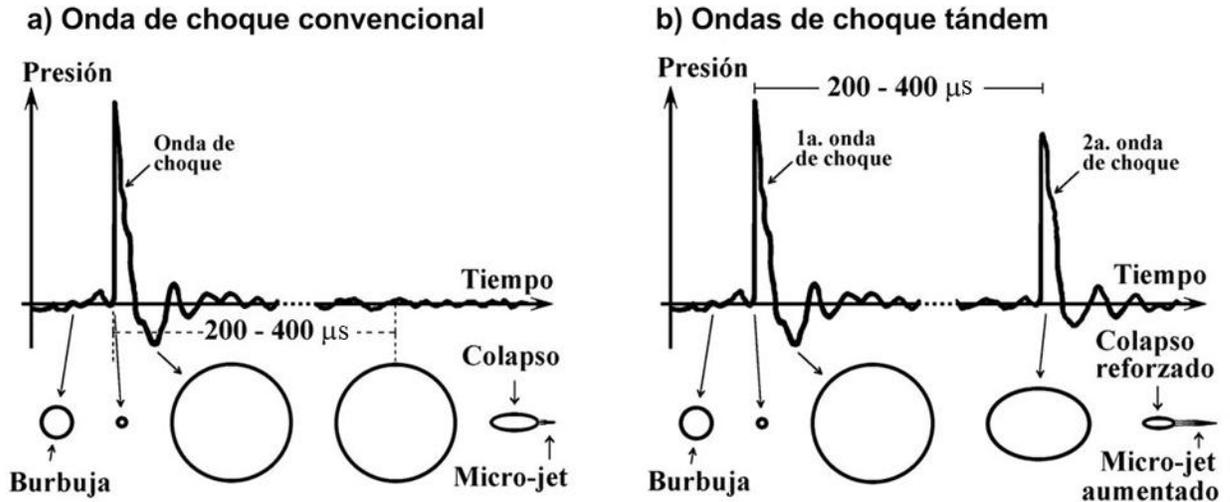


Figura 9. Representación de los efectos en las burbujas por las ondas de choque. a) Con ondas de choque convencionales. b) Con ondas de choque tándem. Esquema creado por M. en C. Francisco Fernández Escobar.

Recientemente, Martínez-Maldonado y colaboradores reportaron una mayor remoción de proteínas y permeabilización de las hifas del hongo *A. niger*, gracias al efecto reforzado de la cavitación acústica mediante las ondas de choque tándem, demostrando su potencial de aplicación en el área biotecnológica y particularmente en este proyecto.

2.6. Propiedades eléctricas

En general, los materiales se comportan de formas distintas cuando se les aplica un campo eléctrico externo, debido a su composición química, estructura cristalina, distribución electrónica, etc. Además, el conjunto de estos materiales puede ser de naturaleza sólida, líquida o gaseosa; aunque en este trabajo solo se abordarán los sólidos. Algunos permiten el movimiento relativamente libre de cargas eléctricas a lo largo de ellos y se conocen como conductores. En otro tipo de materiales, la movilidad es prácticamente nula, por ello, se les denomina aislantes. También hay materiales con comportamientos intermedios conocidos como semiconductores.

La respuesta de los materiales ante un campo eléctrico externo se ha explicado mediante la teoría atómica clásica y el electromagnetismo (Reitz & Milford, 1969), donde se han modelado materiales diversos considerando los núcleos de sus átomos (cargas positivas, con el ordenamiento dado por su estructura cristalina), así como sus electrones más externos conocidos como electrones de

valencia, que son cargas negativas capaces de abandonar sus núcleos con relativa facilidad, para convertirse en electrones libres (e^-), según se ilustra en la figura 10.

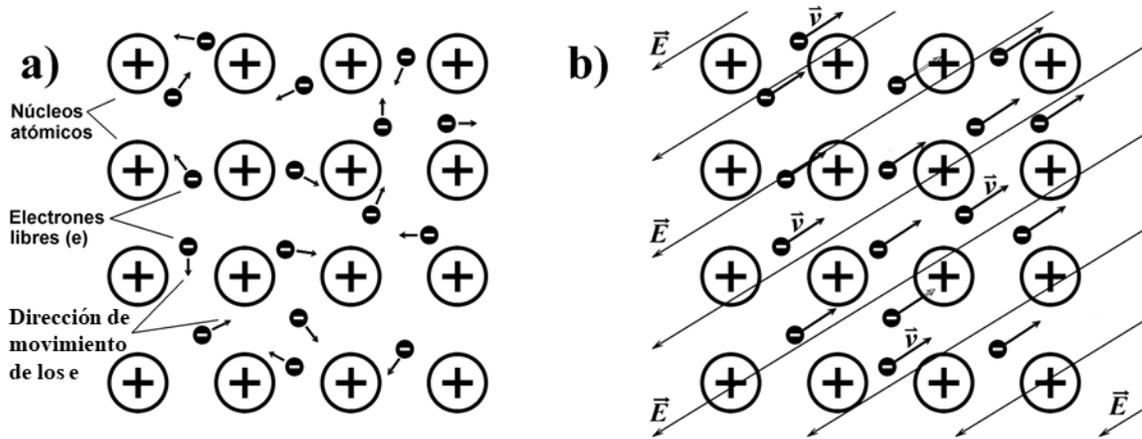


Figura 10. Esquema de los átomos que conforman una red cristalina, representada por la carga positiva de sus núcleos y electrones de valencia liberados. a) Movimiento natural (azaroso) de los electrones libres. b) Movimiento preferencial de los electrones con sus vectores de velocidad \vec{v} , ocasionado por un campo eléctrico \vec{E} externo.

En los materiales conductores, tal liberación ocurre naturalmente por la energía térmica del ambiente y el movimiento de esos electrones generalmente es azaroso (Figura 10a), lo que a nivel macroscópico implica que no se detecte movimiento neto de carga eléctrica, pues por cada electrón que se mueva con cierta trayectoria dentro del material, habrá otro que lo haga en la misma dirección, pero en sentido contrario.

Cuando el material es sometido a un campo eléctrico uniforme \vec{E} de origen externo (figura 10b), los electrones sufren la fuerza eléctrica de Coulomb ($\vec{F} = e\vec{E}$) moviéndose en la misma dirección y sentido contrario al del campo eléctrico, con una velocidad promedio dada por la expresión:

$$\vec{v} = \mu\vec{E} \quad (1)$$

donde μ es una propiedad del material conocida como la movilidad de los electrones en el mismo. Así, bajo un campo eléctrico externo, hay transporte de carga eléctrica neta (Q) en el material con respecto al tiempo (t), lo que constituye una intensidad de corriente eléctrica (I), dada por la definición:

$$I = \frac{dQ}{dt} \quad (2)$$

donde las unidades de Q en el sistema MKS son los coulombs (C), por lo que dicha corriente tiene unidades de C/s, también conocidas como amperes (A).

La intensidad de corriente que puede fluir por un material no sólo depende de sus propiedades sino también de su geometría, además del campo eléctrico externo que puede aplicarse mediante una diferencia de potencial eléctrico (V) en sus extremos (también llamado "voltaje" por sus unidades en el sistema MKS), lo cual se ilustra en la figura 11 para un material con forma de ortoedro (área seccional A y longitud L), en cuyo interior se mueven dichos electrones mostrados como puntos negros.

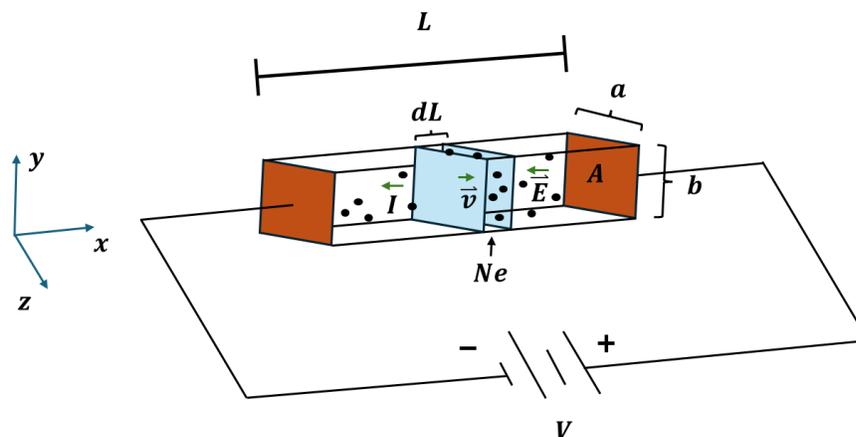


Figura 11. Modelado de un material al que se le aplica un voltaje V en sus extremos, denotando una sección transversal del mismo con espesor dL y los electrones que esta contiene en un instante de tiempo (dt).

En la figura 11 se ha resaltado la sección transversal del material (con área A) en sus extremos y en la parte media, tanto para denotar los contactos adecuados con la fuente de voltaje V que permitan dicha uniformidad del campo eléctrico en el material, así como para considerar una "rebanada" del mismo, con espesor dL , porque en el volumen $A dL$ así formado se puede determinar la cantidad de carga eléctrica dQ ahí existente, en el instante dt en que está fluyendo la corriente. Para esto último, cabe mencionar otra propiedad del material conocida como su densidad de electrones libres; es decir, si el material posee N electrones libres por m^3 , dicho volumen contendrá $NA dL$ partículas y la cantidad de carga eléctrica

será simplemente tal factor adimensional por la carga elemental ($e = 1.602 \times 10^{-19}$ C), según se expresa a continuación.

$$dQ = NA dL e \quad (3)$$

Por otro lado, mientras el voltaje V aplicado al material sea constante, también lo es el campo \vec{E} en su interior, así como la velocidad promedio de los electrones (ecuación 1), que también cumple con la definición $\vec{v} = \overrightarrow{dL}/dt$, por lo que:

$$\overrightarrow{dL} = \vec{v} dt = \mu \vec{E} dt \quad (4)$$

Nótese que \overrightarrow{dL} es un vector, mientras que en la ecuación 3 sólo se involucra su magnitud, ya que dQ es un escalar, al igual que I dada en la ecuación 2. Para evitar confusiones en este aspecto, conviene utilizar la densidad de corriente eléctrica (\vec{J}), vector que se define como:

$$\vec{J} = \frac{I}{A} \hat{a} \quad (5)$$

donde \hat{a} es el vector unitario del área seccional del material y tiene la misma dirección del campo eléctrico. Así, combinando las ecuaciones anteriores, se tiene:

$$\vec{J} = \frac{1}{A} \frac{dQ}{dt} \hat{a} = Ne\mu \vec{E} \quad (6)$$

donde el factor resultante del producto $Ne\mu$ se conoce como la *conductividad eléctrica* del material y usualmente se representa por la letra griega sigma ($\sigma = Ne\mu$); y también se acostumbra a utilizar su recíproco, la *resistividad eléctrica*, que se expresa como $\rho = 1/\sigma = 1/(Ne\mu)$. Ambos parámetros dependen tanto de e , que es una cantidad invariante, como de la densidad y movilidad de los electrones libres en el material, los cuales son susceptibles

de cambiar por la temperatura y el campo eléctrico aplicado (entre otros aspectos que se discuten más adelante), por lo que, en las mediciones al respecto deben también reportarse las condiciones en las que se efectuaron.

Ya con dicha nomenclatura, la ecuación 6 puede escribirse como

$$\vec{E} = \rho \vec{J} \quad (7)$$

que es la expresión de la ley de Ohm en términos del campo eléctrico y la densidad de corriente. Si en esta se involucra la geometría del material mostrada en la figura 11, la magnitud del campo eléctrico puede expresarse como el voltaje aplicado entre la longitud del material ($|\vec{E}| = \frac{V}{L}$) y la magnitud de la densidad de corriente es simplemente la intensidad (I) de esta última entre el área seccional del material, con lo cual se tiene:

$$\frac{V}{L} = \rho \frac{I}{A} \Rightarrow V = \left(\rho \frac{L}{A} \right) I \quad (8)$$

donde el factor $\rho \frac{L}{A}$ se conoce como la resistencia eléctrica (R) del material y sus unidades en el sistema MKS son los ohms [Ω], de modo que $1 \Omega = 1V/1A$. Así, en vez de la ecuación 7 (de tipo vectorial), es común usar en áreas de la electricidad y electrónica las expresiones 9 y 10 mostradas a continuación, tanto por su tipo escalar como porque los instrumentos de medición al respecto involucran directamente los parámetros V , I y R . Como ejemplo de esto último, basta mencionar lo que actualmente se conoce como “multímetro”, cuyo antecedente histórico fue denominado AVO, por las iniciales de los instrumentos: amperímetro, voltímetro y óhmetro, integrados en un mismo equipo.

$$V = R I \quad (9)$$

$$R = \rho \frac{L}{A} \quad (10)$$

Las ecuaciones anteriores son las más conocidas como representativas de la ley de Ohm, pero hay que tener en cuenta que estas se dedujeron de un modelo simplificado para materiales típicamente isotrópicos (sus propiedades son las mismas independientemente de la dirección en que se midan), lo cual también está implícito en la ecuación 7, porque el factor ρ se dejó como un escalar, cuando en el caso más general es otro vector, o mejor dicho una matriz de 3 x 3, según se establece en la igualdad siguiente,

$$\begin{pmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \rho_{xx} & \rho_{xy} & \rho_{xz} \\ \rho_{yx} & \rho_{yy} & \rho_{yz} \\ \rho_{zx} & \rho_{zy} & \rho_{zz} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} J_x \\ J_y \\ J_z \end{pmatrix} \quad (11)$$

donde el vector de campo eléctrico está expresado como una matriz de 3 x 1 con componentes E_x, E_y, E_z ; y similarmente, las componentes del vector de densidad de corriente son J_x, J_y, J_z . Al resolver el producto de matrices, las expresiones resultantes para las componentes del campo eléctrico son:

$$\begin{aligned} E_x &= \rho_{xx}J_x + \rho_{xy}J_y + \rho_{xz}J_z \\ E_y &= \rho_{yx}J_x + \rho_{yy}J_y + \rho_{yz}J_z \\ E_z &= \rho_{zx}J_x + \rho_{zy}J_y + \rho_{zz}J_z \end{aligned} \quad (12)$$

De modo que, para determinar completamente la resistividad de un material anisotrópico, es necesario realizar múltiples mediciones aplicando el campo eléctrico en direcciones distintas y medir las densidades de corriente resultantes, aún en otras direcciones diferentes a las del campo eléctrico aplicado. Tal proceso es impráctico por la instrumentación requerida (además de laborioso); y ya se sabe que, al menos en los polímeros, la matriz de resistividad es simétrica y sus componentes principales son las de la diagonal de la misma (Blyte, 1984). Es por ello que, por convención, se acostumbra a evaluar sólo las componentes $\rho_{xx}, \rho_{yy}, \rho_{zz}$ para los materiales en los que se desconoce el comportamiento de su resistividad eléctrica. De esta manera la elección del sistema de coordenadas es libre y si se aplica el campo eléctrico con dirección paralela a uno de sus ejes (E_x , por ejemplo), las densidades de corriente perpendiculares a tal dirección pueden ser despreciadas ($J_y = J_z = 0$), quedando sólo la expresión $E_x = \rho_{xx} J_x$, donde la

resistividad ρ_{xx} es calculable en términos de las mediciones de E_x y J_x . Procesos análogos en los ejes restantes (aplicación de E_y y E_z), permiten obtener las resistividades ρ_{yy} y ρ_{zz} correspondientes.

Las mediciones involucradas en lo anterior también pueden ser simplificadas si se utilizan muestras cuya forma presente simetrías geométricas, como por ejemplo un trozo cúbico del material con aristas de magnitud a , las cuales se ilustran en la figura 12 y se distinguen como a_x , a_y y a_z sólo por su posición, ya que así se puede aplicar el mismo voltaje V a la muestra y, consecuentemente, el mismo campo eléctrico (\vec{E}) en tres direcciones perpendiculares entre sí (figuras 12a, 12b y 12c), con sólo girar sus caras con respecto a los electrodos de su conexión. Con la intensidad de corriente I registrada en cada caso, se pueden calcular las resistividades correspondientes mediante las expresiones simplificadas de la ley de Ohm (ecuaciones 9 y 10) y determinar la isotropía o anisotropía del material en lo referente a las propiedades eléctricas antes mencionadas.

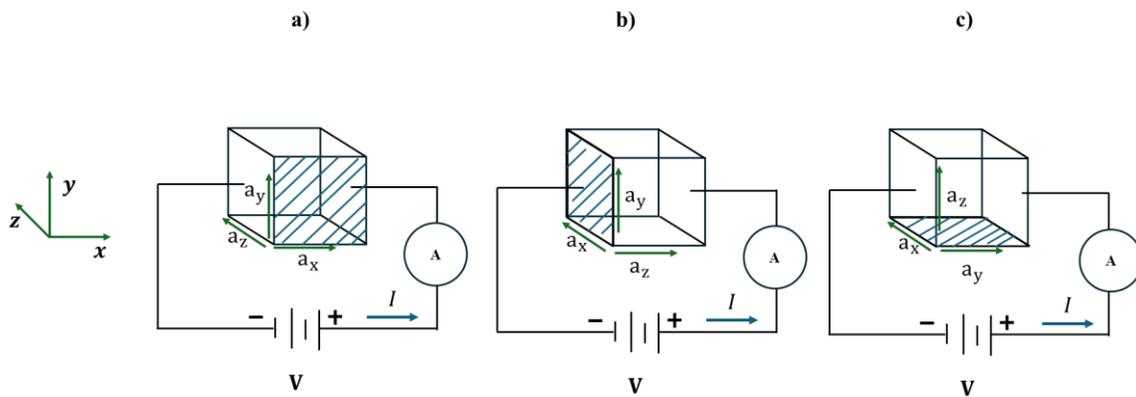


Figura 12. Representación de la determinación de la diagonal de la matriz de resistividad, medida a partir de la corriente (I), en un material cúbico de aristas a_x , a_y y a_z , acoplado a un amperímetro (A). a) Medición de ρ_{xx} con I aplicada en la cara $a_z - a_y$. b) Medición de ρ_{yy} I aplicada en la cara $a_x - a_z$. c) Medición de ρ_{zz} con I aplicada en la cara $a_x - a_y$.

En este trabajo no se pretendió evaluar dichas tres componentes principales de resistividad del CQG, ya que la geometría de las muestras obtenidas (películas delgadas circulares) dificultan su medición en distintas direcciones. Sin embargo, tener la medición de manera precisa en al menos una dirección puede proporcionar una buena referencia para comparar con las resistividades de otros materiales reportados en la literatura, además de enriquecer un análisis anterior

del mismo CQG con diferente geometría, cuya resistividad fue evaluada aplicando voltajes elevados ($\sim 10^4$ V) y se obtuvieron valores de resistividad del orden de $10^8 \Omega\text{m}$, que además fueron dependientes del voltaje aplicado (Millán-Chiu, et al., 2023), lo cual no había sido reportado anteriormente para biopolímeros. Por ello, es de gran interés constatar dicho comportamiento e inclusive con voltajes no tan altos ($< 10^3$ V), donde se esperan valores mucho mayores de dicha resistividad, la cual se midió a través de la resistencia eléctrica de las muestras obtenidas (i.e. involucrando la geometría de las mismas), donde también se esperan magnitudes elevadas (\sim de $\text{G}\Omega$ a $\text{T}\Omega$).

3. ANTECEDENTES

El uso de biopolímeros en el campo de la electrónica ha sido explorado recientemente. Debido a su degradabilidad, estos tienen potencial para mitigar la problemática ambiental que representan los desperdicios electrónicos. Por esta razón, se han estudiado las propiedades eléctricas de distintos biopolímeros y se ha evaluado su desempeño en una variedad de dispositivos, tales como sensores, pantallas, super capacitores, generadores triboeléctricos, actuadores, celdas solares y de combustible (Li, et al., 2020).

El uso de la quitina ha sido evaluado en gran variedad de aplicaciones en electrónica, ya que este es el segundo biopolímero más abundante después de la celulosa. Por ejemplo, se ha analizado su papel como electrolito en una celda de combustible que conduce protones de manera anisotrópica, teniendo una conductividad dependiente de la orientación de la fibra de quitina (Kawabata & Matsuo, 2018). También se ha utilizado junto con su derivado desacetilado (el quitosano) y otros materiales, para formar materiales compuestos empleados en el desarrollo de dispositivos electrónicos flexibles y de almacenamiento de energía (Pottathara, et al., 2020).

Seoudi & Nada (2007) reportaron la constante dieléctrica (ϵ'), la pérdida dieléctrica (ϵ'') y la conductividad en corriente alterna (σ_{AC}) de la quitina de crustáceo tratada con NaOH y HCl, para un intervalo de frecuencias de 0.1 kHz a 3 MHz. Se encontró que su conductividad aumenta con respecto a la frecuencia del voltaje de corriente alterna (AC, por sus siglas en inglés). Esto se explica en términos del mecanismo de conductividad por saltos, que corresponde al transporte de carga entre estados localizados ocupados a estados desocupados. Por otro lado, Zhu y colaboradores evaluaron la resistividad de papeles de nanofibras de quitina con voltaje en corriente directa (DC, por sus siglas en inglés), dando un valor de $7.34 \times 10^{14} \Omega\text{cm}$. Este valor de resistividad fue disminuyendo al aplicar un tratamiento de pirolisis al material, llegando a tener una resistividad de hasta $1 \times 10^{-2} \Omega\text{cm}$. Esto resulta interesante, ya que de esa manera se puede modular la conductividad del material, siendo útil para una variedad de aplicaciones, tales como el desarrollo de supercapacitores y fotosensores (Zhu, et al., 2021).

En contraste, las propiedades eléctricas de la quitina de hongos o, mejor dicho, del CQG han sido muy poco exploradas en comparación con la de crustáceos. Recientemente, Millán-Chiu y colaboradores (2023) midieron la resistividad eléctrica del CQG de *A. niger* en un análisis preliminar a un fragmento de película rectangular. Con el análisis se descubrió que su resistividad no es fija y disminuye de manera no lineal con el voltaje aplicado, en un intervalo de 10 a 18 kV DC. A este comportamiento se le conoce como resistencia dependiente del voltaje (VDR, por sus siglas en inglés)

El comportamiento VDR es común en componentes electrónicos conocidos como varistores, conformados por una matriz cerámica con granos de óxidos metálicos, como el óxido de zinc o carburo de silicio (Begum, Kothandapani, & Hashmi, 2023). En polímeros, el comportamiento VDR ha tenido lugar al formar materiales compuestos, donde el polímero funciona como matriz, mientras que los cerámicos o semiconductores sirven como rellenos que permiten la dependencia de la resistividad con el voltaje (Kerimov, et al., 2010; Ahmad, et al., 2012). No obstante, no se habían reportado polímeros que presentaran VDR sin la adición de algún aditivo o relleno semiconductor, lo cual presenta una oportunidad para explorar esta propiedad en las películas de CQG de *A. niger* y evaluar su potencial en componentes electrónicos completamente biodegradables.

4. JUSTIFICACIÓN

El uso de biopolímeros en el campo de la electrónica es de gran interés para ayudar a mitigar la problemática medioambiental causada por los desperdicios electrónicos.

Dado que la quitina es uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza, se han analizado sus propiedades eléctricas y propuesto aplicaciones para el desarrollo de dispositivos electrónicos basados principalmente en quitina de artrópodos (crustáceos e insectos). Poco se ha estudiado del CQG proveniente de hongos en esta área de aplicación.

A diferencia de la quitina de artrópodos que se encuentra asociada a minerales, la de hongos se obtiene como un copolímero natural de quitina y quitosano enlazado covalentemente a β -glucanos que requiere menos procesamiento para su extracción, ya que no contiene minerales.

Las propiedades de la quitina varían dependiendo del tipo, especie y etapa de crecimiento de la fuente biológica, además del proceso de extracción. Anteriormente se estableció un protocolo para la obtención de películas de CQG extraído del hongo *A. niger* usando ondas de choque. Debido a la diferencia en el proceso de extracción y la composición química de la pared celular de los hongos, se suponen diferencias en las propiedades fisicoquímicas y eléctricas con respecto a la quitina de artrópodos. Es por esto que es importante llevar a cabo una caracterización fisicoquímica de los biopolímeros de la pared celular de *A. niger* que permita entender su conformación, estructura, peso molecular y el grado de acetilación presente en el complejo. Además, conocer la resistividad y voltaje de rompimiento eléctrico de las películas producidas con CQG del hongo, permitirá evaluar su aplicabilidad como material dieléctrico o aislante en las áreas de electricidad y electrónica.

5. HIPÓTESIS

Si se aplican voltajes en corriente directa de manera creciente a las películas de CQG extraídas químicamente empleando ondas de choque, entonces se observará un comportamiento de tipo varistor; es decir, una resistividad eléctrica muy alta que disminuye de manera no lineal conforme se incrementa el voltaje, además de presentar un rompimiento eléctrico en valores altos de voltaje (con respecto a aislantes comerciales) y que exista una diferencia en la respuesta eléctrica debida a la aplicación de ondas de choque durante la extracción. También se espera que las películas tengan una estructura semicristalina y una huella molecular similar a las reportadas en la literatura, para complejos quitina-glucano, además de una morfología fibrilar, presentando características distintas si no se emplean ondas de choque.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Obtener y analizar películas autoensambladas del complejo quitina - glucano, extraído a partir del hongo *A. niger* mediante el método químico asistido por ondas de choque, a fin de caracterizar sus propiedades fisicoquímicas, incluyendo parámetros dieléctricos como el rompimiento eléctrico y su comportamiento en voltajes menores a 1000V; además de evaluar las diferencias en estas propiedades debidas al uso de ondas de choque como técnica de asistencia física para la extracción de CQG.

6.2. Objetivos específicos

6.2.1. Obtención de películas

- Extraer los biopolímeros insolubles a partir de la pared celular de *A. niger*, utilizando como control una muestra del hongo al que no se le apliquen ondas de choque.
- Obtener películas delgadas del complejo polimérico.

6.2.2. Caracterización fisicoquímica

- Cuantificar la proteína presente en los productos de extracción mediante ensayos colorimétricos, evaluando la remoción de proteína debida a la aplicación de ondas de choque.
- Determinar la huella molecular de los modos vibracionales de las películas obtenidas para indagar los tipos de biopolímeros presentes, estimando el tipo polimórfico de quitina y determinando el grado de acetilación mediante FTIR.
- Calcular el índice de cristalinidad e identificar los planos cristalográficos de las películas mediante difracción de rayos X.
- Estimar el peso molecular en viscosidad del biopolímero por medio de reología y la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada.
- Observar la morfología superficial de las películas formadas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).

- Determinar la estabilidad térmica de las películas y sus componentes mediante el análisis termogravimétrico (TGA).
- Evaluar diferencias en los resultados de todas las caracterizaciones fisicoquímicas debidas al uso de ondas de choque durante la extracción.

6.2.3. Análisis eléctrico

- Medir las dimensiones de las películas a analizar.
- Determinar el voltaje de rompimiento eléctrico en DC de las películas.
- Analizar la resistividad de las películas conforme al voltaje aplicado.
- Evaluar diferencias en la respuesta eléctrica debidas a la aplicación de ondas de choque en la obtención de las películas.

7. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

7.1. Esquema experimental

El proceso para la obtención del complejo biopolimérico CQG se encuentra representado en la figura 13, partiendo del cultivo sumergido de *A. niger*, seguido de la inactivación y recuperación de la masa fúngica, para llevar a cabo la extracción asistida por ondas de choque y, finalmente, formar las películas. Posteriormente se efectúa la caracterización fisicoquímica y eléctrica, como se describe a detalle en los apartados siguientes.



Figura 13. Esquema de la metodología experimental para la obtención del CQG y la caracterización fisicoquímica y eléctrica.

7.2. Lista de reactivos

Los reactivos ocupados durante el cultivo sumergido, el proceso de extracción y la preparación de muestras para caracterización se enlistan en la tabla 1. Cabe mencionar que todas las disoluciones se efectuaron en agua destilada estéril.

Tabla 1. Lista de los reactivos empleados para la experimentación y caracterización.

R E A C T I V O S		
Nombre	Fórmula	Marca
Ácido bicinconínico	$(C_9H_5NCO_2H)_2$	ABP Biosciences
Agar bacteriológico		BD Bioxon
Caldo de dextrosa de papa (PDB)		Sigma Aldrich
Cloruro de litio	LiCl	Sigma Aldrich
Cloruro de potasio	KCl	Meyer
Dextrosa anhidra	$C_6H_{12}O_6$	Golden bell
Fosfato de potasio dibásico anhidro	K_2HPO_4	Meyer
Hidróxido de sodio	NaOH	J. T. Baker
N,N-Dimetil acetamida	C_4H_9NO	Sigma Aldrich
Nitrato de sodio	$NaNO_3$	Sigma Aldrich
Quitina comercial		Sigma Aldrich
Quitosano comercial	Poli (D-glucosamina)	Sigma Aldrich
Albúmina de suero bovino		ABP Biosciences
Sulfato de magnesio	$MgSO_4$	J.T. Baker

7.3. Obtención de películas

El proceso para la obtención de las películas de CQG está dividido en cuatro etapas: cultivo sumergido de *A. niger*, recuperación de la masa fúngica, extracción del CQG y formación de las películas.

7.3.1. Cultivo sumergido

El hongo filamentoso *A. niger* fue sembrado en una caja Petri con agar medio mínimo e incubado (Benchmark Scientific, H2200-HC, China) a 33 °C por 5 días. En el quinto día se recolectaron los conidios, agregando 5 mL de PDB

y raspando ligeramente la superficie de las colonias para su resuspensión. Enseguida se realizó un conteo en una cámara de Neubauer con ayuda de un microscopio óptico (Olympus, BX40F) (figura 14a), permitiendo así ajustar la concentración celular para iniciar el cultivo sumergido con 200 conidios mL⁻¹ en 500 mL de PDB. Estos fueron incubados a 33 °C en agitación orbital (Benchmark, Incu-shaker mini, NJ, USA) a 135 rpm por 7 días (figura 13b).

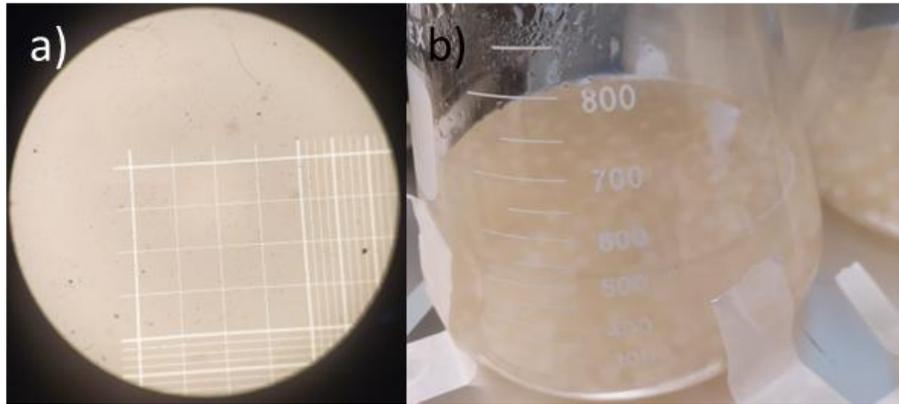


Figura 14. a) *Conteo de conidios en cámara de Neubauer.* b) *Cultivo sumergido del hongo A. niger.*

7.3.2. Recuperación de masa fúngica

Terminado el periodo de incubación, el medio PDB líquido fue pasado por dos capas de papel filtro en una campana de bioseguridad (Thermo scientific, 1300 series A2, USA) y las colonias se recuperaron y resuspendieron en 500 mL de agua destilada estéril. Tanto las colonias como el medio filtrado fueron inactivados en autoclave (Hirayama, HA-240MN, Japón) a 120 °C, por 30 minutos. La masa fúngica fría fue filtrada nuevamente, recuperada, fragmentada en porciones pequeñas y secada en horno (VWR 1330G, Oregon, USA) a 50 °C por 8 h (figura 15). Finalmente, los fragmentos secos fueron pulverizados en un mortero estéril y pesados en una balanza analítica (Ohaus, Adventurer, China) registrando el peso final.



Figura 15. Masa fúngica seca recuperada.

7.3.3. Extracción del CQG asistido por ondas de choque

7.3.3.1. Tratamiento alcalino

Inicialmente se preparó una suspensión de masa fúngica seca en una solución de NaOH 1M a una concentración de 25 mg/mL. Esta fue agitada con un mezclador vortex (Benchmixer, BV1000, Taiwan) hasta ser homogeneizada (figura 16a). Enseguida se repartieron 24 mL de solución en 8 pipetas de transferencia (figura 16b), colocando 3 mL por pipeta. Se procedió a sellarlas con calor; cuatro de ellas (12 mL en total) fueron llevadas a tratamiento con ondas de choque y el resto fue utilizado como control.

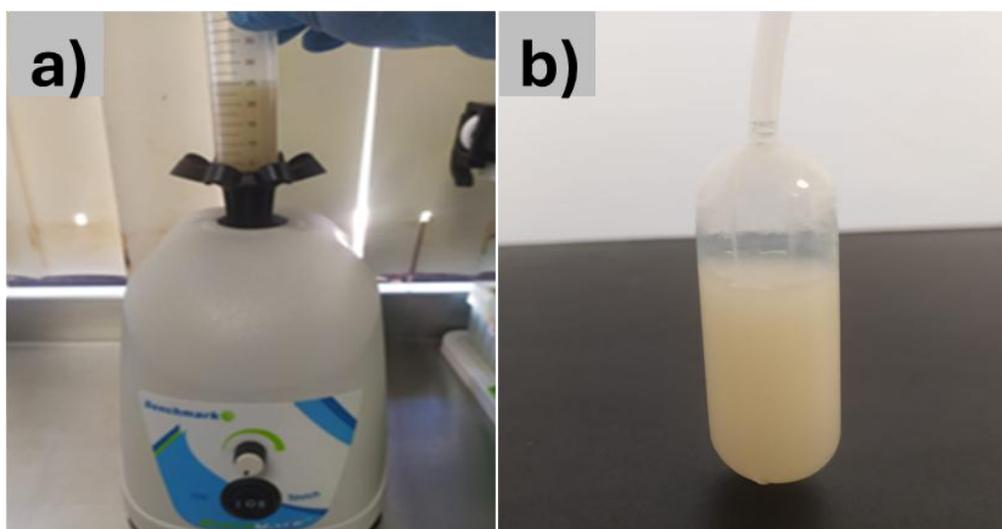


Figura 16. a) Homogenización de la solución de masa fúngica mediante Vortex. b) Pipeta de transferencia para el tratamiento con ondas de choque.

7.3.3.2. Tratamiento con ondas de choque

Pasada 1 h del tratamiento alcalino, cuatro pipetas de transferencia fueron tratadas con ondas de choque en modo tándem, según lo explicado en la sección 2.5.2, controlando con precisión el retraso de la segunda onda con respecto a la primera, bajo una incertidumbre de $\pm 2\mu\text{s}$ para intervalos de 10 a $100\mu\text{s}$ y $\pm 5\mu\text{s}$ para intervalos de tiempo mayores a $100\mu\text{s}$ (y hasta $900\mu\text{s}$). Se utilizó un equipo experimental denominado “Generador de Ondas de Choque Multifuncional” (figura 17a), el cual está basado en un emisor de ondas de choque piezoeléctrico modelo Piezolith 2501, marca Richard Wolf GmbH, (Knittlingen, Alemania), que opera con voltajes entre 2 y 6 kV. En la figura 17b, por simple comodidad de lectura, se repite el esquema de la generación y propagación de las ondas de choque antes mostrado (figura 8, sección 2.5).

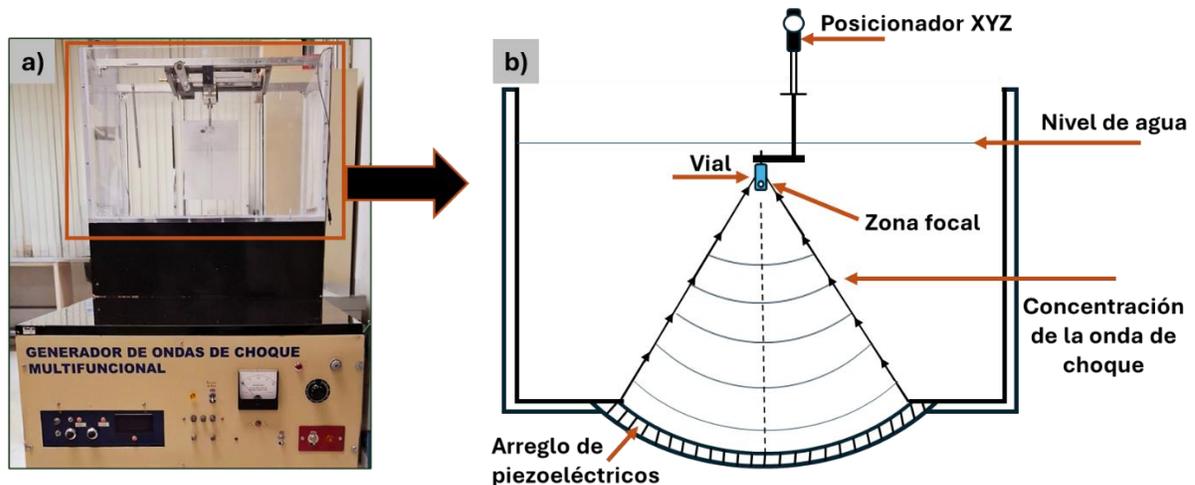


Figura 17. Descripción gráfica del generador de ondas de choque empleado en la experimentación. a) Imagen del tablero de control del Generador de Ondas de Choque Multifuncional. b) Esquema que describe la generación de las ondas de choque y el posicionamiento de la pipeta de transferencia con las muestras, para su tratamiento con ondas de choque.

Los detalles y parámetros del tratamiento a dichas cuatro pipetas de transferencia fueron los siguientes:

Cada pipeta fue colocada y centrada en la zona focal del generador, tomando como referencia la mitad de su volumen.

Las ondas de choque se generaron con un voltaje de 6 kV, ejerciendo un pico de presión positiva (compresión) de 82.77 MPa y una densidad de flujo de energía de 0.895 mJ/mm^2 .

Cada pipeta recibió 2000 eventos en modo tándem; es decir, 4000 ondas de choque, ya que cada evento consiste en una onda de choque primaria seguida de otra secundaria con un retraso determinado. La frecuencia de los eventos fue de 0.5 Hz, es decir un evento cada dos segundos.

Dichos 2000 eventos tándem, se aplicaron a cada pipeta de transferencia con tres retrasos distintos: los primeros 200 eventos tuvieron un retraso de 140 μ s, seguidos de 700 eventos con retraso de 110 μ s y finalmente 1100 eventos con retraso de 80 μ s. Estos retrasos fueron seleccionados en base a experimentos anteriores, en los que se observó una mayor disgregación de la biomasa (Ortiz-Olan, 2022).

7.3.3.3. Tratamiento térmico

Una vez que las pipetas fueron tratadas con ondas de choque se comenzó con el tratamiento térmico, incluyendo los controles. Para ello, las muestras se colocaron en un baño de agua (My Bath, Benchmark, B2000-2, New Jersey, USA) a 65 °C por 3 horas (figura 18a).

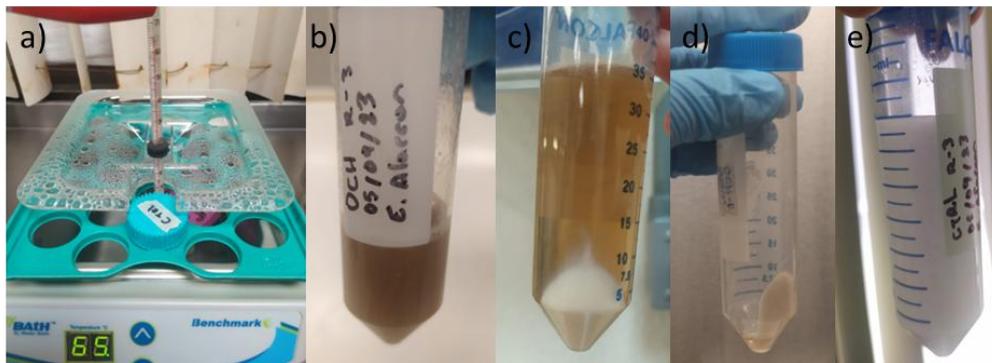


Figura 18. a) Tratamiento térmico de la masa fúngica. b) Solución recuperada de las pipetas de transferencia después del tratamiento térmico. c) Solución centrifugada y d) botón del CQG recuperado. e) Resuspensión del botón en agua destilada a pH neutro.

7.3.3.4. Neutralización con agua

Posterior al tratamiento térmico, las muestras tratadas y las de control fueron vertidas en tubos cónicos (figura 18b) y centrifugadas (Thermo Scientific, Heraeus X1R, Osterode am Harz, Alemania) a 15,000 \times g y 4 °C por 15 min (figura 18c). Enseguida, la solución fue decantada (figura 18d) y el botón fue resuspendido en 12 mL de agua destilada (figura 18e). El proceso fue repetido hasta lograr un pH neutro, corroborando el pH de la solución entre lavados. La

suspensión del CQG extraído fue almacenada a temperatura ambiente hasta su uso.

7.3.4. Formación de las películas

Se vertieron 2 mL de suspensión de CQG en un molde de teflón (figura 19a) con diámetro interior de 3 cm y profundidad de 1 cm, dejando secar en horno a 60 °C por 8 h. Pasado el tiempo, las películas fueron removidas del molde utilizando pinzas (figura 19b), pesadas y almacenadas en papel aluminio a temperatura ambiente en un lugar fresco y seco.

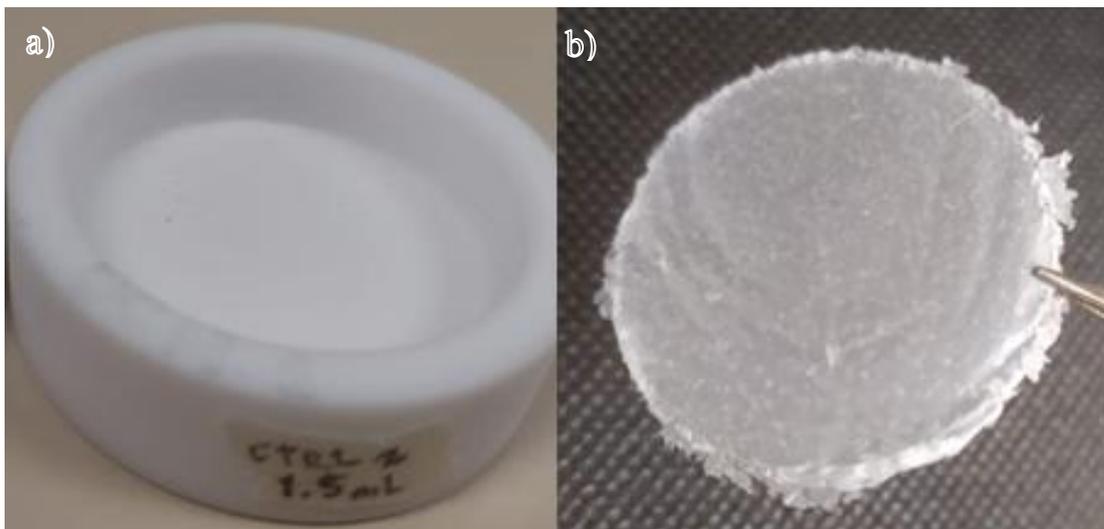


Figura 19. a) Molde de teflón para la formación de las películas. b) Película recuperada del molde.

7.4. Caracterización fisicoquímica

7.4.1. Cuantificación de proteínas

La cantidad de proteína en las películas de CQG y muestras comerciales fue evaluada utilizando un ensayo colorimétrico con ácido bicinonínico (BCA, por sus siglas en inglés). Para esto, 5 mL de la suspensión del CQG extraído con asistencia de ondas de choque (CQG-OCH) y 5 mL del control (CQG-CTL) fueron centrifugados a 15,000 \times g por 5 min a 4 °C, reservando el sobrenadante y secando el botón a 63 °C por 18 h, para después pulverizarlo con ayuda de un mortero. También se prepararon soluciones de quitina (Cc) y quitosano (Qc) comerciales a 4 mg/mL en agua destilada estéril. Estas se repartieron en dos pipetas de transferencia con 3 mL de solución cada una para su tratamiento posterior con ondas de choque, usando el mismo procedimiento descrito en la

sección 7.3.3.2. Enseguida, estas muestras fueron centrifugadas de la misma manera que las muestras CQG-OCH y CQG-CTL. Las muestras sólidas pulverizadas fueron resuspendidas en agua destilada a una concentración de 2 mg/mL.

El ensayo colorimétrico se llevó a cabo empleando un kit de cuantificación de proteínas (ABP Biosciences, Beltsville, USA) de acuerdo con el protocolo para microplaca sugerido por el fabricante. Se preparó una curva de calibración a partir de 20 μ L de albúmina de suero bovino (BSA) como proteína estándar de concentración conocida, disuelta en agua destilada estéril. 20 μ L de cada una de las suspensiones de muestras sólidas tratadas con ondas de choque (Cc-OCH, Qc-OCH y CQG-OCH), sin tratamiento (Cc, Qc y CQG-CTL) y de sus respectivos sobrenadantes (sCc-OCH, sCc, sQc-OCH, sQc, sCQG-OCH y sCQG-CTL) fueron colocados por triplicado en la microplaca, donde posteriormente se añadieron 200 μ L del reactivo de trabajo. La microplaca fue incubada a 37 °C por 30 minutos y fue analizada en un lector de microplacas (Thermo Scientific, Varioskan LUX, USA) a 562 nm.

7.4.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

Las películas tratadas con ondas de choque y de control fueron analizadas por transmisión en un espectrofotómetro infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés), mediante la técnica de reflectancia total atenuada (ATR, por sus siglas en inglés) con cristal de diamante (Thermo Scientific, Nicolet is5, USA). El análisis se llevó a cabo en el intervalo de 4000 a 500 cm^{-1} , con una resolución de 2 cm^{-1} .

A partir de los espectros adquiridos se identificaron los modos vibracionales y se asignaron los grupos funcionales a los que corresponden, de acuerdo con la literatura. Además, mediante la metodología descrita por Brugneroto, et. al. (2001), se determinó el DA, empleando la ecuación 13, donde A_{1320} y A_{3450} son las absorbancias máximas para las bandas en las regiones de 1,320 y 3,450 cm^{-1} , respectivamente. Dichas absorbancias fueron medidas después de aplicar las líneas base b1 y b6 (Brugneroto et al., 2001) para la banda a 3,450 y 1,320 cm^{-1} , respectivamente.

$$DA = \frac{\left(\left(\frac{A_{1320}}{A_{3450}} \right) - 0.03146 \right)}{0.00226} \quad (13)$$

7.4.3. Análisis termogravimétrico

Para el análisis termogravimétrico (TGA, por sus siglas en inglés) del CQG, se concentró, por centrifugación, un volumen de la solución de CQG neutralizada en un tubo cónico de 1.5 mL. El sobrenadante fue decantado y el botón fue secado en un horno a 60 °C por 12 h. El botón fue pulverizado con un mortero y pesado, repartiendo 10 mg de cada muestra para su análisis. Las muestras fueron pesadas en charolas de platino y colocadas en el carrito de muestras del equipo (TA Instruments, TGA 550, Delaware, USA). El análisis se efectuó por triplicado en atmosfera de nitrógeno, con un flujo de masa de 60 mL/min, una tasa de 5 °C/min, en un intervalo de 25 a 900 °C.

7.4.4. Determinación de peso molecular mediante reología

El peso molecular se determinó a partir de la viscosidad del CQG disuelto en una disolución de dimetil acetamida con cloruro de litio (DMAc-LiCl) al 5 % p/v, con dos concentraciones (0.5 y 0.25 mg/mL) del complejo. Para ello se colocó 1 mL de cada muestra en un plato caliente de un reómetro (TA Instruments, Discovery HR3, Delaware, USA), con una geometría cónica estándar de titanio de 60 mm de diámetro, ángulo de cono de 1 ° y 32 μm de truncamiento. Como comparativa, también se colocó una muestra de quitina comercial disuelta en el mismo solvente (5 % p/v DMAc-LiCl).

A partir de las gráficas de esfuerzo – tasa de corte (τ - $\dot{\gamma}$), se obtuvo la viscosidad de cada solución polimérica (η_{mezcla}) para cada concentración. Al graficar al menos dos concentraciones (C) de cada disolución con respecto al cociente η_{mezcla}/C se obtuvo la viscosidad intrínseca (η), la cual es la ordenada al origen de la recta. A partir de η , el peso molecular en viscosidad (Mv) fue calculado mediante la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (ecuación 14), donde “k” y “a” son constantes del sistema en disolución. Para quitina en DMAc/LiCl al 5 % p/v a 30 °C los valores de k y a son 7.6×10^{-5} dL/g y 0.95 respectivamente.

$$[\eta] = k(M_v)^a \quad (14)$$

7.4.5. Microscopía electrónica de barrido

La morfología superficial de las películas fue analizada mediante microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) (Hitachi, SU 8230, Japón). Se observaron dos muestras de películas de CQG: CQG-OCH y CQG-CTRL, además de polvo de Cc y Qc. Para observar las películas, se colocaron trozos de aproximadamente 1 x 1 mm en un portamuestras con cinta de carbono, siguiendo el mismo procedimiento con las muestras en polvo. Posteriormente, las muestras fueron recubiertas con oro mediante pulverización catódica. Las imágenes fueron tomadas con electrones secundarios a un voltaje de aceleración de 1 kV, 20.5 mm de distancia de cámara y un intervalo de 5000 a 100,000 aumentos ópticos.

7.4.6. Difracción de rayos X

Se analizó la estructura cristalina tanto de muestras en polvo de Cc y Qc, como de las películas CQG-OCH y CQG-CTL utilizando un difractómetro Rigaku, Ultima IV, aplicando un voltaje de 40 kV y una corriente de 30 mA en una corrida de 5 ° a 80 ° en 2 θ , a una velocidad de 2 °/min y un paso de 0.02 grados con una configuración Bragg-Brentano, usando una fuente de radiación de Cu K α ($\lambda=1.5406 \text{ \AA}$).

Las películas de CQG, por su espesor y forma, fueron analizadas con un portamuestras de fondo cero, mientras que los polvos comerciales de crustáceo fueron colocados en un portamuestras regular, cubriendo hasta el límite de la cavidad del portamuestras.

El análisis consistió en identificar los planos cristalográficos, el tipo polimórfico de la quitina presente en el CQG y el índice de cristalinidad (CI, por sus siglas en inglés) de las muestras a partir de sus patrones de difracción.

El CI fue calculado mediante un método empírico establecido por Segal, et al. en 1959 para celulosa, adaptado para quitosano por Struszczyk en 1987 y empleado para quitina de hongo por varios autores en los últimos años (Farinha, et al., 2015) (Bouregghda, Satha, & Bendebane, 2021) (Zhang, et al., 2022). El cálculo del CI se realizó por medio de la ecuación 15, donde I_{110} es la intensidad máxima del

plano de difracción (110) que se encuentra aproximadamente a 20° en 2θ y I_{am} es la intensidad máxima de la zona amorfa cerca de 16° en 2θ .

$$CI(\%) = \frac{(I_{110} - I_{am})}{I_{110}} * 100 \quad (15)$$

7.5. Caracterización eléctrica

Una evaluación robusta de la resistividad eléctrica del CQG obtenido requiere de su medición en tres direcciones distintas y perpendiculares entre sí (ρ_{xx} , ρ_{yy} , ρ_{zz}), que correspondan a la diagonal del tensor de resistividad descrito en la sección 2.6. Para ello se diseñó y construyó la instrumentación, como se detalla en la sección siguiente. Cabe mencionar que de momento ésta solo se utilizó para medir resistividad en una sola dirección, debido tanto a la geometría de las películas delgadas de forma circular obtenidas, como al interés de conocer el umbral de rompimiento eléctrico del CQG, además de explorar la resistividad eléctrica en voltajes menores a los reportados por Millán-Chiu, et al., 2023.

7.5.1. Montaje experimental para la caracterización eléctrica del complejo quitina-glucano

El montaje experimental para determinar tanto ρ como el rompimiento eléctrico (E_{br}) del CQG, fue desarrollado a base del circuito descrito en la figura 20, que consiste en una fuente de alto voltaje, un multímetro para monitorear el voltaje DC suministrado por la fuente (V_F), dos electrodos cónicos de cobre entre los cuales se colocan las muestras, una resistencia limitadora de corriente (R_{Lim}) y un medidor de corriente, conformado por una resistencia sensora (R_S) acoplada a un voltímetro digital con una resistencia interna (R_{Vm}) a fin de medir voltajes análogos a corrientes ($V_M@I$) en unidades de μA .

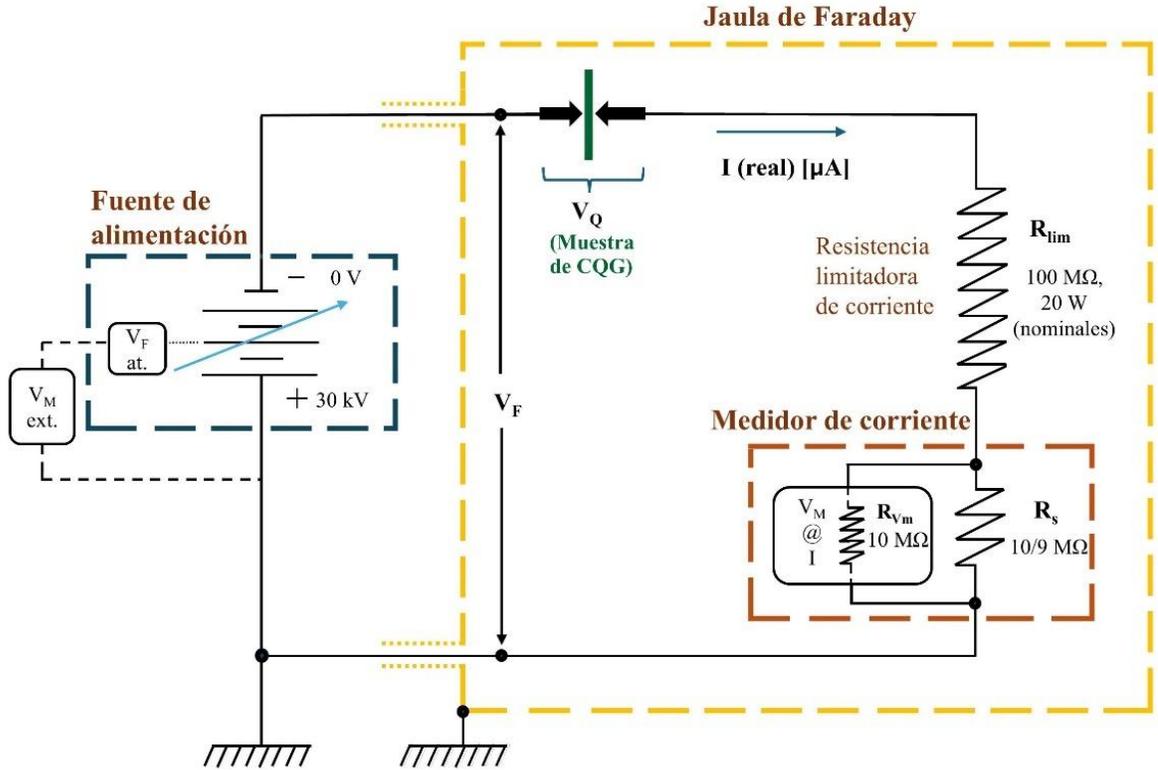


Figura 20. Circuito para determinar la resistividad y el rompimiento eléctrico de las películas de CQG.

El proceso de medición consistió en aplicar manualmente a cada película de CQG valores de V_F (con incrementos de aproximadamente 50V, comenzando en 30 V, hasta que suceda el rompimiento eléctrico) monitoreados como se describe en la sección 7.5.1.1. Posteriormente se midieron los valores de $V_{M@I}$ para determinar I por ley de Ohm, conociendo el valor de la resistencia interna equivalente (R_{ieq}) del sistema de medición de corriente, como es descrito en la sección 7.5.1.4. A partir de los valores respectivos de I que pasan a través de la muestra, se calculan sus resistencias eléctricas (R_Q) por ley de Ohm ($R_Q = V_Q/I$); para así determinar ρ considerando la geometría de la película.

Para obtener los valores de ρ , cada valor de voltaje aplicado a las películas del CQG es obtenido de la ecuación de malla del circuito (ley de voltajes de Kirchhoff), cumpliéndose que $V_Q = V_F - V_{RLim} - V_{M@I}$, donde los dos últimos términos corresponden, respectivamente, a los voltajes en la resistencia limitadora y el medidor de corriente, que a su vez pueden expresarse como $V_{RLim} = R_{Lim} I$ y $V_{M@I} = R_{ieq} I$, por lo que V_Q y, consecuentemente, R_Q se obtuvieron mediante las expresiones siguientes:

$$V_Q = V_F - I (R_{Lim} + R_{ieq}) \quad (16)$$

$$R_Q = \frac{V_F}{I} - (R_{Lim} + R_{ieq}) \quad (17)$$

Al imponer la condición de rompimiento eléctrico de la película (tanto R_Q como V_Q tienden a ser nulos) para ambas ecuaciones (16 y 17) se reducen a:

$$V_F = I (R_{Lim} + R_{ieq}) \quad (18)$$

Esta expresión fue útil para determinar el valor de R_{Lim} con mayor precisión que el especificado por su fabricante, a fin de disminuir en lo posible las propagaciones de incertidumbres sistemáticas en dichas mediciones de CQG, lo cual se describe en la sección 7.5.2.

7.5.1.1. Fuente de alto voltaje

La fuente de alimentación ilustrada en la figura 21 es de la marca Gamma High Voltage Research™, modelo HVR RR30-20R (Ormond Beach, FL, USA), regulada contra variaciones de carga, voltaje de línea y temperatura ambiental. Se usó en modo fuente de voltaje variable en el intervalo de 20 V a 30 kV, con disponibilidad de hasta 20 mA de corriente.



Figura 21. Panel frontal de la fuente de alto voltaje utilizada en la caracterización eléctrica del CQG.

La selección de cada voltaje V_F suministrado al circuito fue mediante el helipot de 10 vueltas con vernier etiquetado como “VOLTAGE”, que permite establecer

magnitudes con resolución de 0.2 % y linealidad con un coeficiente de correlación de 0.99999 en todo el intervalo de voltajes.

Los valores de V_F se despliegan típicamente en el medidor analógico ubicado arriba del control de voltaje (tipo D'Arsonval, con resolución de 0.5 kV), pero también cuenta con una salida de V_F atenuada con la razón 10,000:1, donde se puede conectar un voltímetro externo con impedancia mayor o igual a 10 M Ω , para mejorar la resolución de las lecturas hasta el límite del control de voltaje (0.2 %), dependiendo de la precisión de dicho voltímetro externo, que en este trabajo fue de un multímetro digital marca Steren Uni-T, modelo MUL-600 (CDMX, México), con despliegue de 4 dígitos (cuenta máxima: 3999), resolución de 0.025 % y exactitud de ± 0.8 % con 3 y 1 cuentas adicionales correspondientes a los rangos utilizados (400 mV y 4 V).

7.5.1.2. Jaula de Faraday

Las mediciones de ρ y rompimiento eléctrico de las películas de CQG fueron realizadas dentro de una jaula de Faraday, para evitar el ruido electromagnético externo. Esta última fue construida en el taller mecánico del CFATA y se muestra en la figura 22. Consiste en una estructura de hierro tubular (PTR de 1”), con dimensiones de 24 cm de ancho, 25 cm de alto y 35 cm de largo, que fue cubierta tanto con láminas delgadas (1 mm de espesor) como con malla de hierro (rejillas de 1 x 1 mm), además de una puerta (también de hierro y cubierto con la malla), la cual se fijó a la estructura mediante bisagras, como acceso lateral al interior de la jaula.

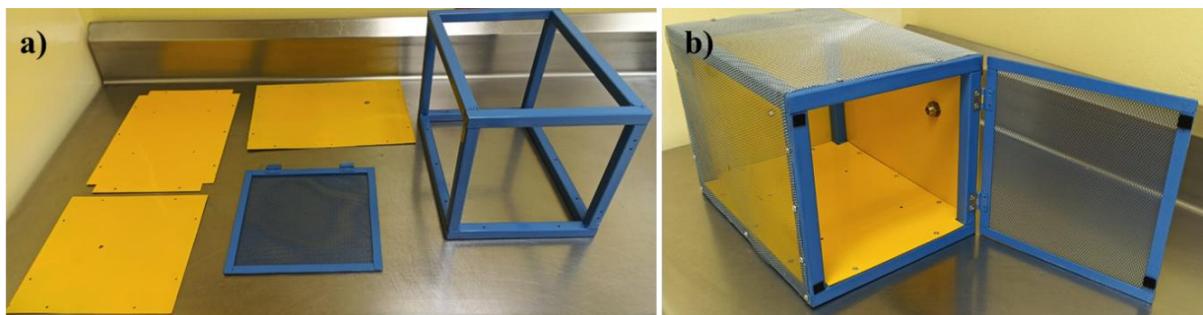


Figura 22. Jaula de Faraday fabricada para las mediciones de resistividad. a) Partes principales. b) Jaula de Faraday ensamblada.

También se maquinaron dos orificios para las conexiones de la fuente de alimentación y la tierra física (en las placas trasera y lateral izquierda, respectivamente); y en la malla frontal se cortaron algunas rejillas para introducir el cable del voltímetro configurado como medidor de corriente (ver sección 7.5.1.4), según se muestra en la figura 23.



Figura 23. Medición de corriente en el circuito para determinar la resistividad y el rompimiento eléctricos de las películas de CQG.

7.5.1.3. Soporte del circuito

Dentro de la jaula de Faraday (figura 23) se distingue una base de acrílico (Plastiglass®, México) en la que está montado el circuito, la cual se presenta con mayor detalle en la figura 24, donde, en la parte superior, se observan los conectores y electrodos de cobre, maquinados para dar contacto y soporte a las películas del CQG. Cada electrodo tiene geometría cilíndrica recta acabada en punta cónica truncada, cuya superficie circular de contacto es de $\pi \pm 0.01\pi \text{ mm}^2$ (diámetro de $2 \pm 0.01 \text{ mm}$).

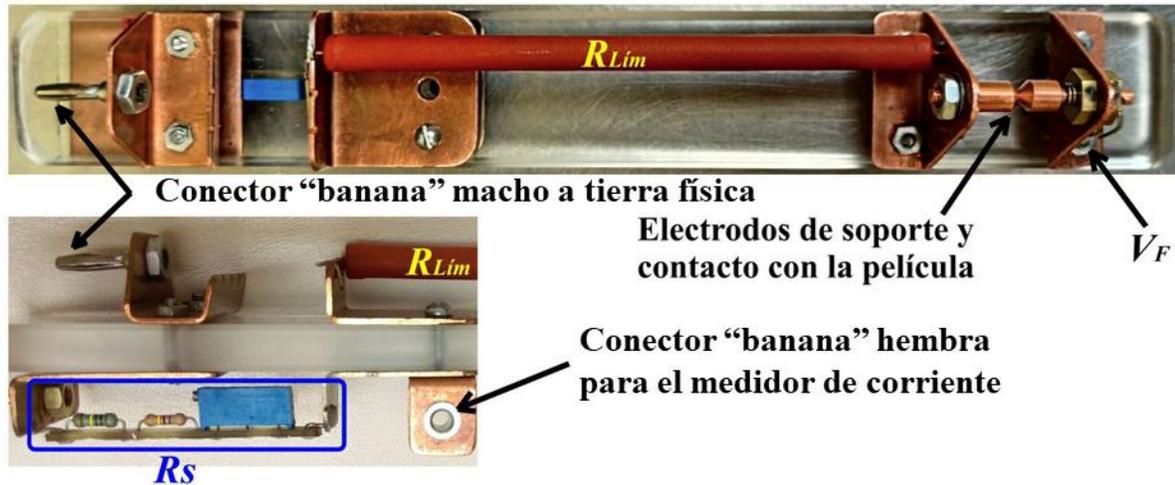


Figura 24. Imagen del soporte del circuito. De derecha a izquierda, en la imagen superior, se muestran los electrodos donde se aplica el voltaje de la fuente (V_F) y se sostiene la muestra, la resistencia limitadora de corriente (R_{Lim}) y el arreglo de resistencias que conforman la resistencia sensora (R_s) mostrada en un acercamiento en la imagen inferior izquierda.

En la imagen inferior de la figura 24 (vista lateral del extremo izquierdo de la base), se puede notar que la resistencia sensora (R_s) está formada por una serie de tres resistencias: $1\text{ M}\Omega$ al 2 % de tolerancia, $100\text{ k}\Omega$ al 5 % de tolerancia y una variable de 0 a $20\text{ k}\Omega$, por un tornillo de 10 vueltas (“trim-preset”), mediante el cual se ajustó la magnitud de R_s al valor deseado, utilizando el óhmetro descrito en la siguiente sección.

7.5.1.4. Medidor de corriente

El sistema empleado para la medición de la corriente (I) en el circuito (figura 20) fue conformado por un multímetro digital marca Schlumberger 7150 plus (Massachusetts, USA) de $6\frac{1}{2}$ dígitos (cuenta máxima: 1999999), usado como voltímetro acoplado a la resistencia sensora R_s (ver figura 23), tomando en cuenta que la impedancia del voltímetro (R_{Vm}) es mayor a $10\text{ G}\Omega$ para los rangos de 0.2 V y 2 V, mientras que, en los rangos de 20, 200 y 1000 V, R_{Vm} es de $10\text{ M}\Omega$ como se puede constatar en la tabla 2, donde se describen las especificaciones de precisión del instrumento. Así, las lecturas mayores a 1.999999 V corresponden directamente a corrientes en unidades de μA , y las lecturas menores o iguales a dicha magnitud tuvieron que multiplicarse por $0.9\ \mu\Omega^{-1}$, factor cuyo recíproco es el valor nominal de R_s , ya que el paralelo de esta (R_{ieq}) con más de $10\text{ G}\Omega$, resulta prácticamente en su mismo valor.

Cabe mencionar que se añadió una resistencia limitadora de corriente (R_{Lim}) al circuito, con valor nominal de 100 M Ω , 5 % de tolerancia y 20 W de potencia máxima, que de fábrica (Metallux™, Oviedo, España) fue diseñada para altos voltajes, permitiendo proteger al sistema de medición de corriente de una posible sobrecarga al momento del rompimiento eléctrico de las muestras, con un voltaje que puede ser hasta de 30 kV (para casos extremos no analizados en este trabajo), dada la fuente de alimentación utilizada que se describe más adelante con mayor detalle.

Tabla 2. Especificaciones de precisión del multímetro Schlumberger 7150 plus. Datos tomados del manual del fabricante (Schlumberger Technologies, 1988).

DC Voltage

Accuracy: \pm [% rdg + counts]. 5½ digits.

Nominal Range	Sensitivity		Input Resistance	Stability $T_0 \pm 1^\circ\text{C}$ 24 hrs	Limits of Error $T_0 \pm 5^\circ\text{C}$	
	6½D	5½D			90 Day	1 Year
0.2V	100nV*	1 μ V	>10G Ω	0.002 + 3	0.006 + 4	0.008 + 4
2.0V	1 μ V	10 μ V	>10G Ω	0.002 + 3	0.005 + 4	0.006 + 4
20V	10 μ V	100 μ V	10M Ω	0.002 + 3	0.006 + 4	0.008 + 4
200V	100 μ V	1mV	10M Ω	0.002 + 3	0.006 + 4	0.008 + 4
1000V	1mV	10mV	10M Ω	0.002 + 3	0.006 + 4	0.008 + 4

For 6½ digits add 3 to counts error + 1 μ V.

3½ digit accuracy add 1 to counts error. 4½ digit accuracy divide counts error by 2.

*Over the bus only.

Resistance

Accuracy: \pm [% rdg + counts]. 5½ digits.

Nominal Range	Sensitivity		Measuring Current	Stability $T_0 \pm 1^\circ\text{C}$ 24 hrs	Limits of Error $T_0 \pm 5^\circ\text{C}$	
	6½D	5½D			90 Day	1 Year
2.0k Ω	1m Ω	10m Ω	100 μ A	0.002+4	0.015+5	0.02+5
20k Ω	10m Ω	100m Ω	100 μ A	0.002+3	0.015+4	0.02+4
200k Ω	100m Ω	1 Ω	10 μ A	0.003+3	0.025+4	0.03+4
2.0M Ω	1 Ω	10 Ω	1 μ A	0.005+3	0.025+4	0.03+4
20M Ω	10 Ω	100 Ω	100nA	0.03 +20	0.045+20	0.05+20

For 6½ digits: add 3 to counts error + 5m Ω . 3½ digit accuracy add 1 to counts error.

4½ digit accuracy divide counts error by 2.

7.5.2. Propagación de incertidumbres y prueba del montaje experimental

Para la propagación de incertidumbres sistemáticas de las mediciones, se utilizó el método descrito por Baird en 1962, que consiste en obtener la

diferencial de la función involucrada en la medición, considerando sus términos en valor absoluto, ya que los errores se consideran siempre acumulativos. Es decir, para una función Y que dependa de las variables $x_1, x_2, x_3, \dots, x_N$:

$$Y = f(x_1, x_2, x_3, \dots, x_N) \quad (19)$$

Su diferencial con términos en valor absoluto es:

$$dY = \left| \frac{\delta Y}{\delta x_1} \right| dx_1 + \left| \frac{\delta Y}{\delta x_2} \right| dx_2 + \left| \frac{\delta Y}{\delta x_3} \right| dx_3, \dots, \left| \frac{\delta Y}{\delta x_N} \right| dx_N \quad (20)$$

(nótese que “ d ” se usa como operador de diferencial, mientras que “ δ ” es para derivada parcial), que permite encontrar la incertidumbre absoluta de Y (denotada como dY), en términos de las incertidumbres absolutas de las variables: $dx_1, dx_2, dx_3, \dots, dx_N$.

Al aplicar las diferenciales a las funciones de resistividad y resistencia en la película previamente descritas: $\rho_Q = R_Q A/L$ (ecuación. 10, sección 2.6, con $A = \pi(D/2)^2$) y $R_Q = V_F/I - R$ (ecuación 17, sección 7.5.1, con $R = R_{Lím} + R_{ieq}$), se obtuvieron las expresiones para calcular sus incertidumbres absolutas respectivas:

$$d\rho_Q = \frac{A}{L} dR_Q + \frac{R_Q}{L} dA + \frac{R_Q A}{L^2} dL \quad (21)$$

$$\text{con: } dA = \left(\frac{\pi}{2}\right) D dD$$

y

$$dR_Q = \frac{dV_F}{I} + \frac{V_F}{I^2} dI + dR \quad (22)$$

$$\text{con: } dR = dR_{Lím} + dR_{ieq}$$

Las incertidumbres dV_F y dI se toman de la exactitud de los instrumentos en los que se midieron, mencionadas en las secciones 7.5.1.1 y 7.5.1.4, respectivamente; mientras que para el valor preciso ($R_{Lím}$) e incertidumbre ($dR_{Lím}$) de la resistencia limitadora de corriente se efectuó una prueba del montaje experimental, ya que para el valor nominal de tal resistencia ($100 \text{ M}\Omega \pm 5\%$) no

se contó con el instrumento comercial adecuado a su medición con mayor precisión (Megóhmetro, también llamado “medidor de aislamiento”).

Para la prueba se aplicaron voltajes (V_F) entre 1 y 9 kV en intervalos de aproximadamente 300 V al circuito, como se observa en la figura 25. Los valores de corriente (I) fueron registrados y graficados contra V_F , para aplicar una regresión lineal (método de mínimos cuadrados) que permitió determinar la suma de resistencias $R = R_{Lím} + R_{ieq}$ y particularmente el valor de $R_{Lím}$ con mejor precisión, considerando la ecuación 15 anticipada en la sección 7.5.1. Las mediciones fueron llevadas a cabo a condiciones ambientales de 25 °C y humedad relativa de 52 %.

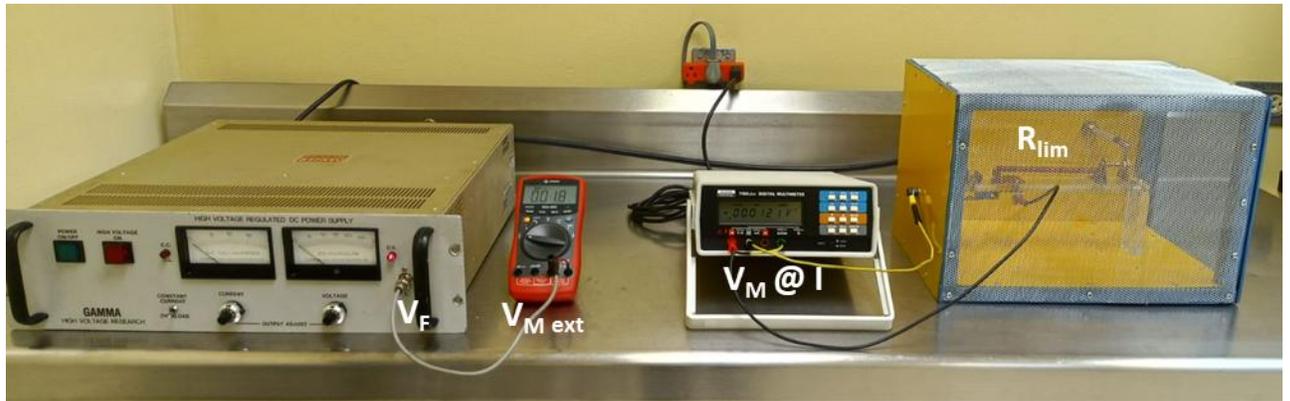


Figura 25. Imagen del montaje experimental para la caracterización eléctrica de las películas del CQG, inicialmente utilizado para determinar el valor de la resistencia limitadora de corriente con mayor precisión.

7.5.3. Medición de resistividad y rompimiento eléctrico

Se evaluaron la resistividad y el rompimiento eléctrico tanto de las películas de CQG-OCH, como de CQG-CTL. Cada caso se midió por triplicado, insertando la película a evaluar entre los electrodos de soporte (ver figura 24), ubicados dentro de la jaula de Faraday mostrada en la figura 22, para después aplicar voltajes al circuito a partir de 30 V, con incrementos de aproximadamente 50 V y hasta llegar a 1100 V, registrando las lecturas de cada voltaje (V_F) seleccionado y la consecuente corriente (I) en el circuito.

A partir de las corrientes medidas y mediante la ecuación 14 fue posible obtener la resistencia eléctrica de la zona de la película entre los electrodos (R_Q), para cada pareja de valores (V_F , I), incluyendo su incertidumbre (dR_Q) calculada mediante la ecuación 22. Con estos valores se calcularon las magnitudes e

incertidumbres de la resistividad de las películas mediante la igualdad $\rho = R_Q (A/L)$ y la ecuación 21, donde $A = \pi \pm 0.01\pi \text{ mm}^2$ es el área de contacto de los electrodos con la película y “ L ” es el espesor de ésta en la zona de contactos, medida con un tornillo micrométrico con incertidumbre de $\pm 5 \mu\text{m}$, antes de colocar la muestra entre los electrodos.

También se determinaron los valores del voltaje aplicado a las películas (V_Q) empleando la ley de Ohm ($V_Q = R_Q I$), la cual fue graficada con respecto a ρ en los intervalos de valores donde aún no ocurría el rompimiento eléctrico, para analizar la resistividad de las películas.

El rompimiento eléctrico (E_{br}) se expresa como el máximo voltaje que resiste un material de determinado espesor antes de romperse, volviéndose más conductor, lo cual se manifiesta por un incremento abrupto de la corriente que fluye a través de este. Se determinó graficando los valores de V_Q contra los de I , identificando el valor de V_Q inmediato anterior al incremento abrupto de corriente y denominándolo V_{br} . Con la ecuación 23 se calculó el rompimiento eléctrico en kV/cm.

$$E_{br} = \frac{V_{br}}{L} \quad (23)$$

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Cuantificación de proteínas

La concentración de proteínas presente en las muestras comerciales Cc y Qc y en las películas CQG-OCH y CQG-CTL fue evaluada para comprobar si las ondas de choque tienen un efecto en la remoción de proteínas, además de comparar el contenido de proteína en la quitina comercial con respecto al CQG obtenido.

En la figura 26 se muestra la gráfica con las concentraciones de proteína correspondientes en mg/mL, resultantes del ensayo colorimétrico con BCA. Es importante resaltar que las muestras tratadas con ondas de choque (Cc-OCH y CQG-OCH) presentan una pérdida mayor de proteínas que sus controles (Cc-CTL y CQG-CTL).

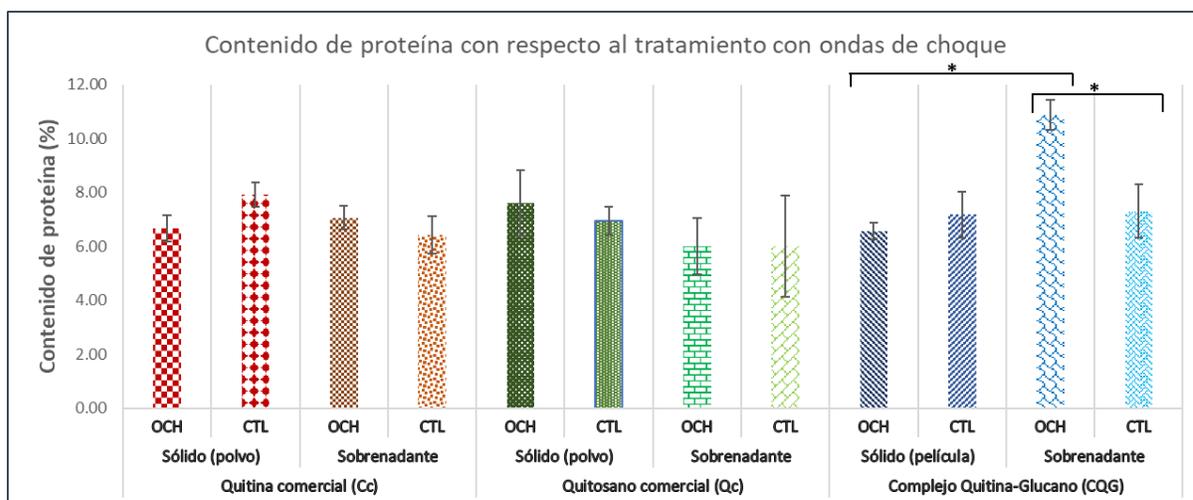


Figura 26. Gráfica de barras con las concentraciones promedio de las muestras sólidas tratadas con ondas de choque de quitina comercial (Cc-OCH), quitosano comercial (Qc-OCH) y CQG (CQG-OCH), sus sobrenadantes (sCc-OCH, sQc-OCH y sCQG-OCH), los controles sólidos sin tratamiento con ondas de choque (Cc-CTL, Qc-CTL y CQG-CTL) y sus sobrenadantes respectivos (sCc-CTL, sQc-CTL, sCQG-CTL).

La cantidad de proteína perdida por el efecto de las ondas de choque fue evaluada calculando el porcentaje de proteína perdido en cada muestra $\left(\%perdida = \frac{proteína\ en\ sobrenadante\left(\frac{mg}{mL}\right)}{proteína\ total\ en\ la\ muestra\left(\frac{mg}{mL}\right)} * 100 \right)$ y restando el porcentaje obtenido en las muestras tratadas con ondas de choque con los controles ($\%perdida_{OCH} -$

$\%perdida_{CTL}$). En la muestra Cc-OCH, la pérdida de proteína observada en el sobrenadante fue 6.51 % mayor que en Cc-CTL, mientras que en CQG-OCH fue 11.96 % mayor que en CQG-CTL, siendo esta una variación significativa ($p < 0.05$). Esto implica que el tratamiento con ondas de choque promovió una mayor liberación de proteínas, siendo más eficiente para el CQG que para las muestras comerciales. También se observó que con ondas de choque el CQG presentó 1.85 % menos concentración de proteínas que la quitina comercial tratada con ondas de choque.

8.2. Análisis de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

Las películas de CQG fueron estudiadas mediante espectroscopía FTIR para analizar su conformación química (modos vibracionales de los grupos funcionales de los polímeros encontrados en el complejo) para determinar el grado de acetilación y el tipo polimórfico de las cadenas de quitina. Cabe mencionar que los valores negativos de transmitancia en las gráficas se deben a que la línea base empleada para el tratamiento de las gráficas se colocó en 0%. Los resultados se presentan de forma detallada en las secciones siguientes.

8.2.1. Identificación de grupos funcionales y huella molecular

Las bandas identificadas se enlistan en la tabla 3. En esta se muestran de manera comparativa las bandas obtenidas en la quitina comercial (Cc), el quitosano comercial (Qc) y las películas CQG-OCH y CQG-CTL. De manera general, la banda amplia de $3350 - 3600 \text{ cm}^{-1}$ corresponde al estiramiento axial de los grupos -OH de las cadenas D – acetilglucosamida (Kumari & Kishor, 2020). Las bandas en 3266 y 3102 cm^{-1} corresponden a la vibración asimétrica y simétrica del -NH, respectivamente, mientras que en la región de $2800 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ se encuentran los estiramientos del CH_2 del carbono 6 de del anillo de piranosa y del grupo acetilamida (Farinha, et al., 2015). En la región de $1720 - 1620$, $1570 - 1470$ y 1250 cm^{-1} se encuentran las amidas I, II y III, respectivamente; mientras que los polisacáridos se pueden identificar en la región de $1200 - 900 \text{ cm}^{-1}$ (Bouregghda, Satha, & Bendebane, 2021).

Tabla 3. Identificación de los modos vibracionales de las bandas observadas en el espectro de FTIR para muestras de quitina comercial (Cc), quitosano comercial (Qc) y películas de CQG; CQG-OCH y CQG-CTL.

Cc	Qc	CQG-OCH	CQG-CTL	Modos vibracionales
3452	3440	3360	3358	O-H tensión
3264	-	3266	3270	O-H tensión
3107	3098 (hombro)	3112 (hombro)	3102 (hombro)	
-	-	3008	3008	
2958	-	2954	2955	C-H tensión (anillo de piranosa)
2932	-	-	-	C-H tensión (quitina)
-	2918	2923	2922	C-H tensión (anillo de piranosa)
2890	-	-	-	C-H tensión (N-acetilglucosamina)
2880	2875	-	-	CH ₂ tensión (anillo de piranosa)
-	-	2854	2852	CH ₂ tensión (anillo de piranosa)
2786	-	2804	2807	
-	2727	2683	-	
-	1728	1743	1745	C=O tensión (ácido urónico acetilado)
1658	1662	1654	1654	Amida I
1642	1644	1643	1643	flexión del enlace con agua: +O-H-O
1632	-	1627	1625	Deformación del NH ₂
1563	1569	-	-	
1554	1551	1554	1557	Amida II
1535	1532	1535	-	
1461	1448	1454	1460	CH ₂ flexión
1432	1429	1419	1434 (hombro)	C-H de la piranosa
1379	1381	1377	1375	Flexión de +O-H
1314	1319	1315	1310	Flexión C-O-H + deformación CH ₂
1262	1260	1253	1254	
1233	-	1230 (hombro)	-	
1205	1201 (hombro)	1203	1202	
1157	1156	1157	1154	C-C de piranosa
1115	-	1107 (hombro)	1106	
1072	1073	1076	1070	
1029	1033	1037	1028	
973 (hombro)	-	-	-	
949	951 (hombro)	956 (hombro)	953 (hombro)	Deformación C-H del anomero β
918	-	922	921	Deformación C-H del anomero α
897	896	894	894	Deformación C-H del anomero β
-	-	852 (hombro)	-	
-	-	813	813	Banda de mananos
752	-	-	-	
709	719	719	718	
-	683	685	690	
-	671	667	-	
-	653	-	-	
638	-	633	632 (hombro)	
616	-	617	-	
-	-	597	595	
-	-	574	568	
559	-	563 (hombro)	-	
530	-	530	528	

El espectro completo de las muestras de CQG-OCH y Cc puede compararse en la figura 27, donde se identificaron los picos principales y sus grupos funcionales correspondientes. Ambos espectros son muy similares entre sí, a excepción de una banda a 1743 cm^{-1} . De acuerdo con Bikmurzin et al. (2022), esa banda puede estar relacionada con la vibración del enlace C=O de lípidos residuales de la membrana celular.

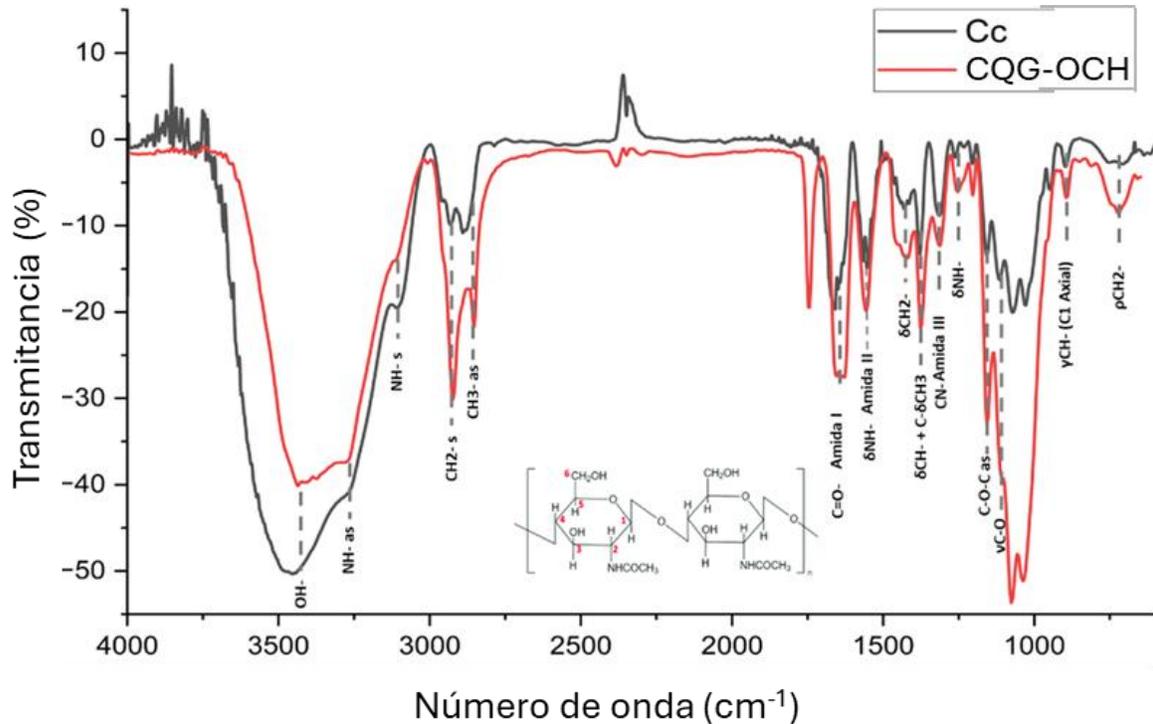


Figura 27. Identificación de modos vibracionales con sus grupos funcionales correspondientes para los espectros de quitina comercial (Cc) y película de CQG obtenida por extracción asistida con ondas de choque (CQG-OCH).*

En la figura 28 se muestra una sección del espectro completo (ver figura 27) en la región de $2000 - 600\text{ cm}^{-1}$, donde se identifican las bandas correspondientes a los β -glucanos presentes en el CQG. Con esto se demuestra la presencia de glucanos β -1,3 y 1,6, donde el β -1,6 glucano presenta una banda a 1730 cm^{-1} , que podría estar enmascarada por la banda estrecha en 1743 cm^{-1} correspondiente al grupo carbonilo de los lípidos residuales de la membrana celular (Bikmurzin, et al., 2022).

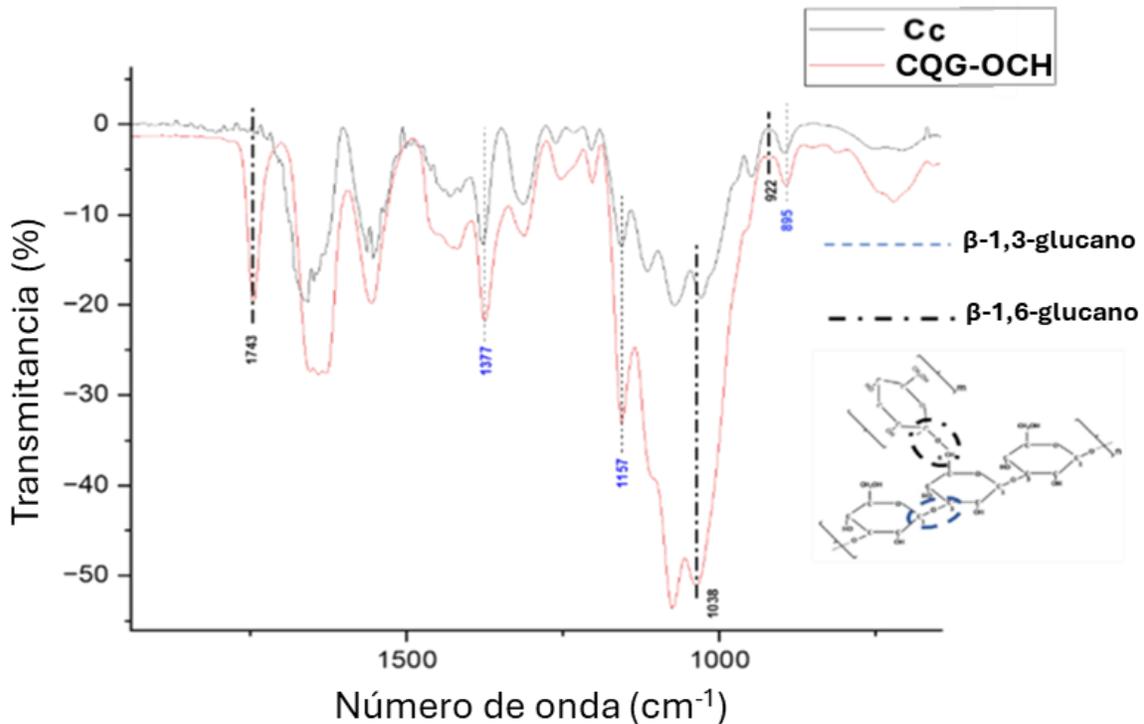


Figura 28. Comparación de espectros de FT-IR de Cc y CQG-OCH, resaltando las bandas que identifican a los glucanos β -(1,3/1,6).

En la figura 29 se muestran los espectros de las películas CQG-OCH y CQG-CTL, respectivamente. Observando ambos espectros, es notable que la conformación de las películas no cambia, ya que, en ambas muestras se observan bandas con picos de absorción en los mismos números de onda. Sin embargo, las diferencias en intensidad pueden indicar distintas proporciones de los grupos funcionales presentes, aunque, esto no se puede demostrar con precisión ya que el análisis aquí presentado es meramente cualitativo.

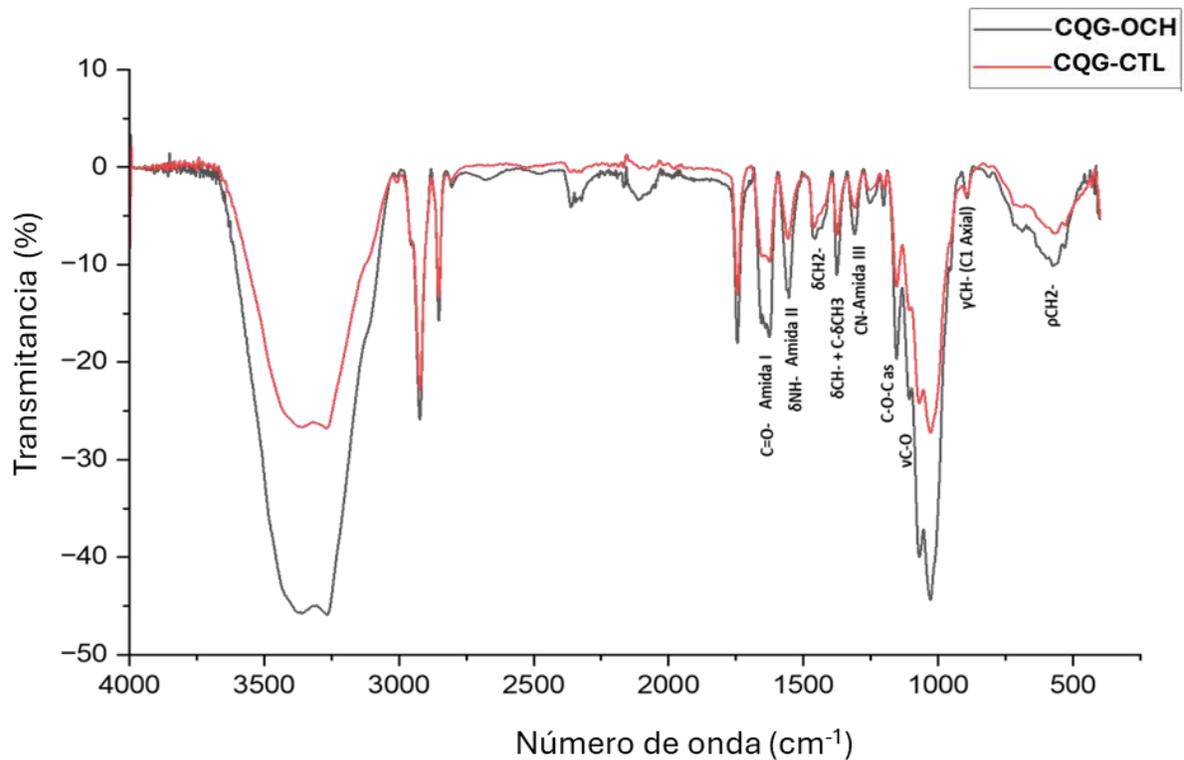


Figura 29. Comparación de espectros de FTIR de las películas tratadas con ondas de choque (CQG-OCH) y sin tratamiento de ondas de choque (CQG-CTL).

8.2.2. Grado de acetilación

Al medir la absorbancia de los picos a 1320 y 3450 cm^{-1} y emplear la ecuación 13 propuesta por Brugnerotto et al. (2001), se obtuvieron los porcentajes de DA de las muestras Cc, el Qc, CQG-OCH y CQG-CTL. En la tabla 4, se muestran las magnitudes porcentuales obtenidas para cada caso. Los valores de DA para CQG-OCH y CQG-CTL son más cercanos a los de Qc, denotando un carácter de quitosano, con un nivel mucho menor de acetilación que la muestra Cc.

Tabla 4. Grado de acetilación de la quitina comercial (Cc), quitosano comercial (Qc) y de las películas CQG-OCH y CQG-CTL. Estas últimas fueron medidas por triplicado. Las muestras comerciales solo fueron medidas una sola vez.

Muestras	DA (%)
Cc	93.32
Qc	22.22
CQG-OCH	31.49 ± 2.19
CQG-CTL	27.52 ± 1.39

De acuerdo con la literatura, los valores de DA encontrados para las muestras CQG-OCH y CQG-CTL son más bajas que las obtenidas por CQG de *A. niger* comercial (DA = 62 %) (Farinha, et al., 2015), pero más altas que el quitosano extraído de *A. niger* por Tayel, et al. (2011), de alrededor de 10 %.

El bajo DA en las muestras extraídas podría deberse a que en la etapa de crecimiento del hongo en la que el CQG fue extraído, la quitina ya se encontraba desacetilada en cierto grado. Posteriormente, con el tratamiento alcalino, las muestras pudieron haber sufrido mayor desacetilación. Cabe resaltar que entre la muestra CQG-OCH y CQG-CTL hay una diferencia del DA de casi 4 %, siendo la muestra CQG-OCH la que tuvo mayor porcentaje de acetilación.

8.2.3. Determinación de tipo polimórfico

El tipo polimórfico puede determinarse observando la región del espectro comprendida entre 1660 y 1620 cm^{-1} , correspondiente a la amida I. Si en esa región se observan dos bandas se trata de quitina α . Si solo se muestra una banda, se trata de quitina β (Jang, Kong, Jeong, Lee, & Nah, 2004).

De acuerdo con análisis anteriores realizados por Farinha, et al. (2015), se espera que el tipo polimórfico de la quitina extraída de *A. niger* sea del tipo α ; no obstante, es importante resaltar que el grado de acetilación afecta las bandas observadas, como se muestra en la figura 30, donde la banda del Qc cambia en gran medida con respecto de la Cc que es del tipo α .

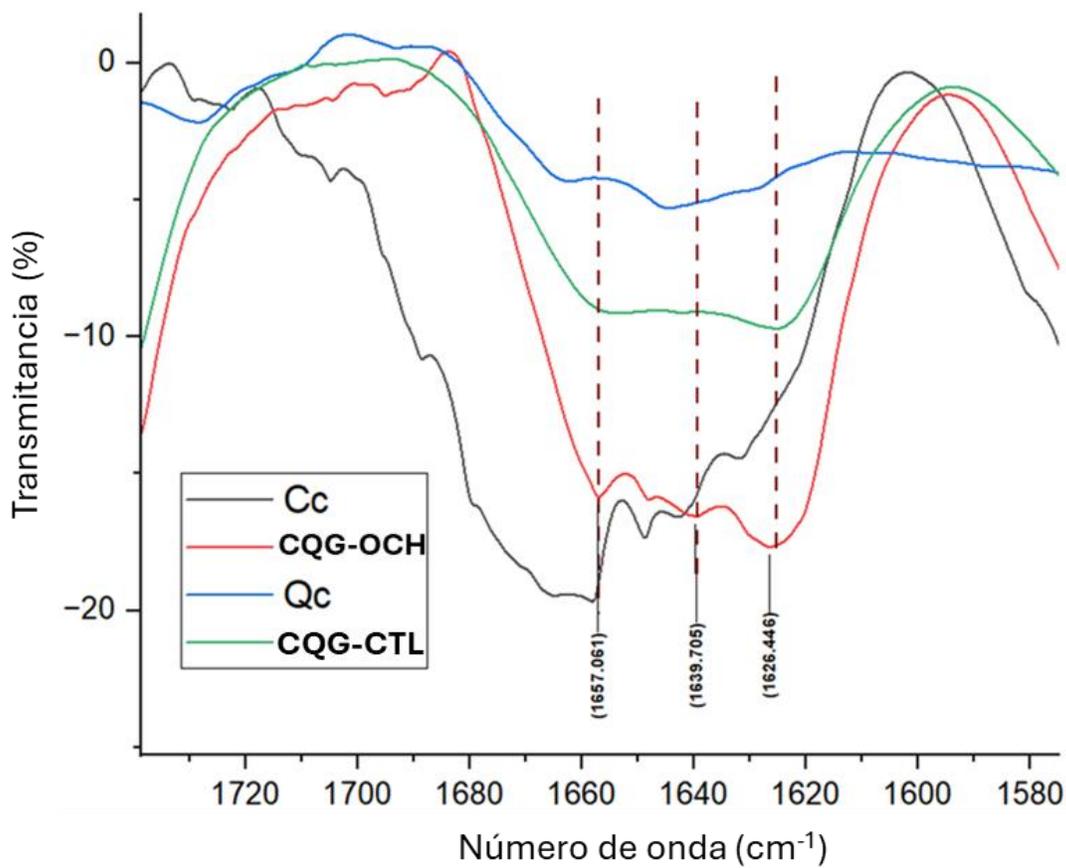


Figura 30. Región de 1660 - 1620 cm^{-1} para determinar el tipo polimórfico de la quitina en el CQG extraído.

La banda de CQG-OCH denota 2 picos principales a 1657 y 1626 cm^{-1} , los cuales corresponderían al tipo α . Sin embargo, también se muestran picos intermedios, principalmente uno a 1639 cm^{-1} , que puede estar asociado a proteínas provenientes de la pared celular del hongo (Bikmurzin, et al., 2022). La banda de CQG-CTL, en cambio, presenta con mucho menor intensidad dicho pico intermedio, sin dejar de mostrar los mismos picos principales que CQG-OCH.

8.3. Análisis termogravimétrico

8.3.1. Estabilidad térmica

Se ha reportado que el CQG proveniente de diferentes especies de hongos se degrada en tres etapas. La primera, correspondiente a la evaporación de agua, se encontró en el intervalo de 25 a 150 $^{\circ}\text{C}$. La segunda, encontrada entre 150 y 290 $^{\circ}\text{C}$, es la etapa principal de degradación que corresponde a la descomposición de las cadenas de quitina y los anillos de piranosa por deshidratación y remoción de

aminas (Muñoz, et. al., 2015), junto con la degradación de proteínas y glucanos residuales (Bouregghda, Satha, & Bendebane, 2021). La tercera etapa muestra la degradación completa de las cadenas poliméricas y la descomposición del carbono residual, encontrada entre los 290 y 700 °C. Además, al final de la descomposición térmica, entre los 700 y 900 °C, se puede determinar el contenido de cenizas, que comúnmente corresponde a la materia inorgánica residual de la muestra, tales como minerales.

Las muestras reportadas en la figura 31a, presentan en general las mismas tres etapas descritas en el párrafo anterior. La pérdida de agua en la primera etapa (entre 30 y 150 °C) para todas las muestras fue relativamente baja (aproximadamente entre 1.8 y 5.6 % peso, ver tabla 5, etapa 1) debido a que todas las muestras fueron secadas previamente a 120 °C por 3 h para registrar solo el agua ligada a las moléculas de las muestras.

La segunda etapa apareció aproximadamente entre 240 y 290 °C para todas las muestras (figura 31b), donde el termograma diferencial (DTG, por sus siglas en inglés) presentó un máximo para las muestras de Qc, CQG-CTL y CQG-OCH por la pendiente alta de la curva de degradación, mientras que para la Cc solo se observó un pequeño hombro (figura 31a), con una pérdida de masa del 7.37 % (ver tabla 5, etapa 2), el cual probablemente se deba a la presencia de proteínas residuales.

En la tercera etapa, entre 290 – 700 °C, se observan curvas de DTG para Cc, CQG-CTL y CQG-OCH, pero no para Qc, mostrando que la degradación de Qc solo sucede en dos etapas, como es el caso de los materiales quitinosos que provienen de crustáceos (Gbenebor, et. al., 2017; Jang, et. al., 2004).

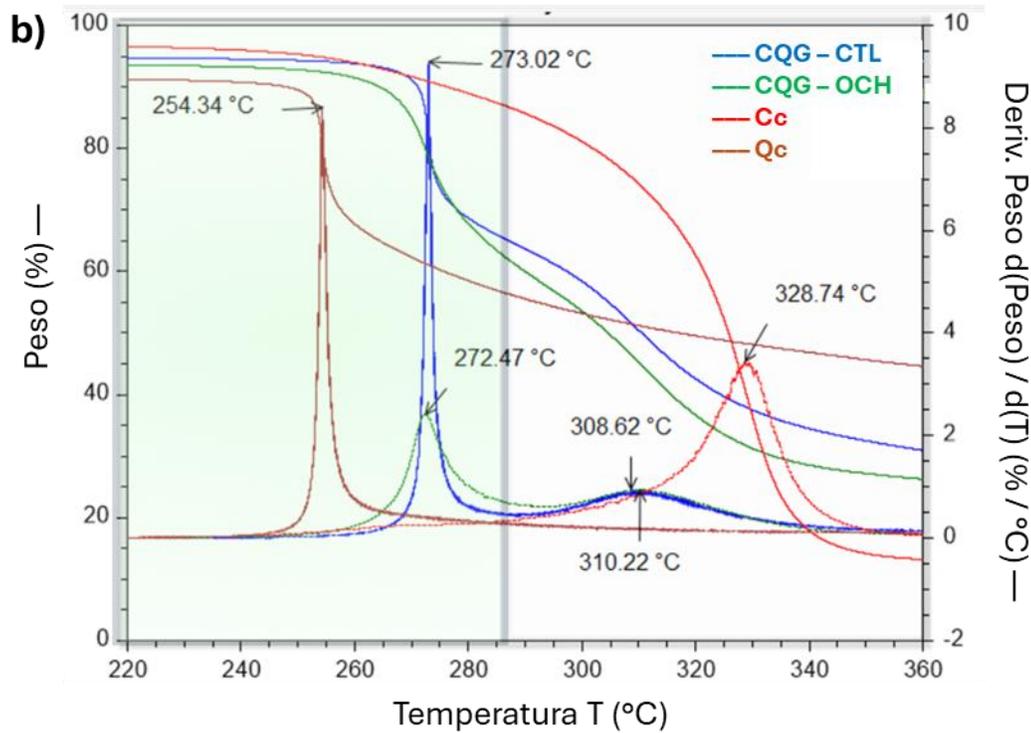
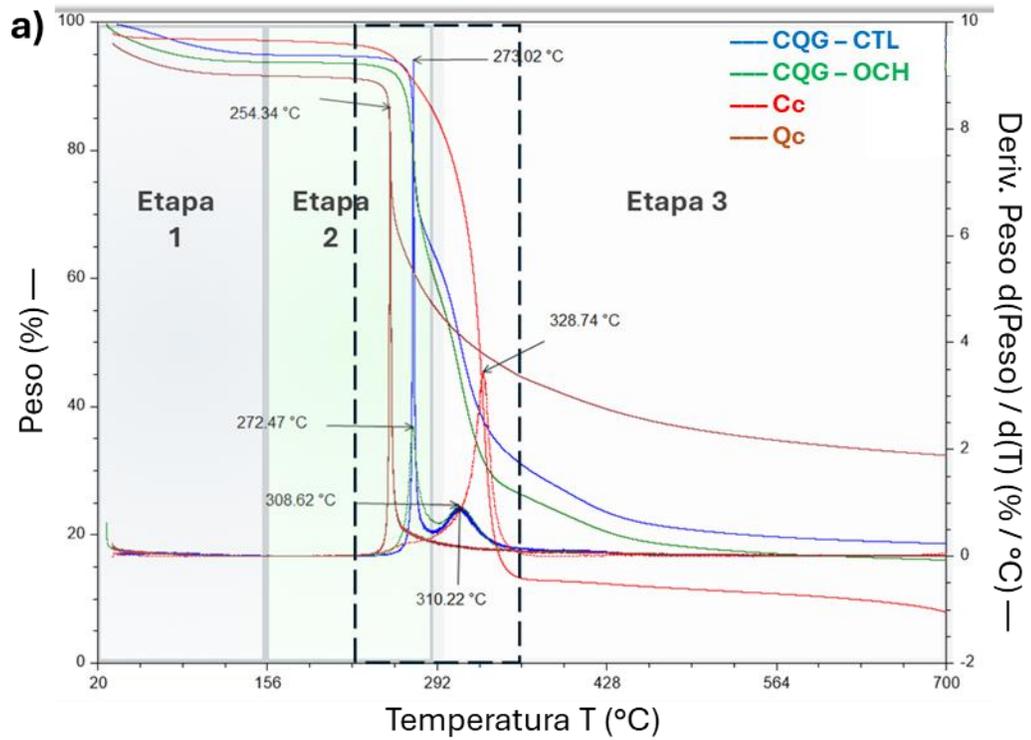


Figura 31. Termograma de las muestras de quitina comercial (Cc), quitosano comercial (Qc) y las películas de CQG tratadas con ondas de choque (CQG-OCH) y sin tratamiento (CQG-CTL), con las curvas de DTG. Se muestran las 3 etapas de degradación térmica a) y un acercamiento a la degradación principal de las muestras en la región de 220 – 360 °C b).

En la tabla 5, se muestran las temperaturas de degradación por etapa y por material. En esta se muestra que el Qc pierde la mayor cantidad de masa en la segunda etapa y que además es el polímero que posee un mayor contenido de ceniza, sugiriendo la presencia de una mayor cantidad de minerales residuales. En cambio, las muestras de Cc, CQG-CTL y CQG-OCH tuvieron mayor pérdida de masa en la tercera etapa. En el caso de Cc podría deberse a que la quitina tiene un alto índice de cristalinidad y DA, lo que le da más estabilidad térmica, ya que como se registró presentó mayor degradación hasta los 328.73 °C.

*Tabla 5. Temperaturas de degradación (T_{deg}) y pérdidas de masa en porcentaje de cada etapa de degradación de las películas de CQG extraídas del hongo *A. niger*. Los valores de T_{deg} de las muestras CQG-CTL y CQG-OCH se muestran como promedios de tres réplicas experimentales junto con sus respectivas desviaciones estándares.*

	Etapa 1		Etapa 2		Etapa 3		Cenizas	
	Tdeg (°C)	Peso (%)	Tdeg (°C)	Peso (%)	Tdeg (°C)	Peso (%)	Tdeg (°C)	Peso (%)
Cc	61	1.798	264.9	7.374	328.73	78.184	731.74	11.017
Qc	31.8	5.053	254.34	62.228	-	-	886.04	28.928
CQG-OCH	60.83 ± 34.91	5.63 ± 0.47	270.64 ± 1.7	31.88 ± 3.35	310.29 ± 1.62	43.36 ± 1.02	885.49 ± 0.12	18.05 ± 3.78
CQG-CTL	62.61 ± 25.17	5.31 ± 0.85	272.63 ± 0.39	31.55 ± 2.44	308.42 ± 1.47	45.24 ± 1.10	885.34 ± 0.05	11.63 ± 4.97

Las películas CQG-OCH y CQG-CTL presentaron una estabilidad térmica superior a la de Qc, lo que podría relacionarse también con un DA mayor (Abdel-Fattah, et.al., 2007). Por otro lado, la estabilidad térmica entre CQG-OCH y CQG-CTL resultó ser muy similar. Incluso las pérdidas de peso fueron semejantes en cada etapa, a excepción del contenido de cenizas, en el que hubo alrededor de un 7 % más en la película formada a partir de muestras tratadas con ondas de choque. Esto podría atribuirse a la permeación de la solución alcalina provocada por las ondas de choque, haciendo que posiblemente se tengan residuos de sales de NaOH en el interior de las hifas. Dada esta ubicación, es probable que estos no sean fáciles de remover con los lavados en la etapa de neutralización.

8.4. Peso molecular en viscosidad

El peso molecular de las películas CQG-OCH y CQG-CTL fue determinado a partir de la viscosidad, empleando la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (ecuación 14), que relaciona M_v con η del polímero disuelto, donde ambas son directamente proporcionales y están asociadas a dos constantes, “ a ” y “ k ”, propias del sistema de disolución y la temperatura empleada para el análisis.

En la figura 32 se presentan las diferencias en viscosidad entre las películas CQG-OCH y CQG-CTL para ambas concentraciones de disolución usadas (0.5 y 0.12 mg/mL), en comparación con la viscosidad del disolvente sin quitina (DmAc/LiCl). Todas las muestras presentaron mayor viscosidad que el disolvente, siendo las películas de CQG-CTL las que tuvieron la mayor viscosidad en ambas concentraciones.

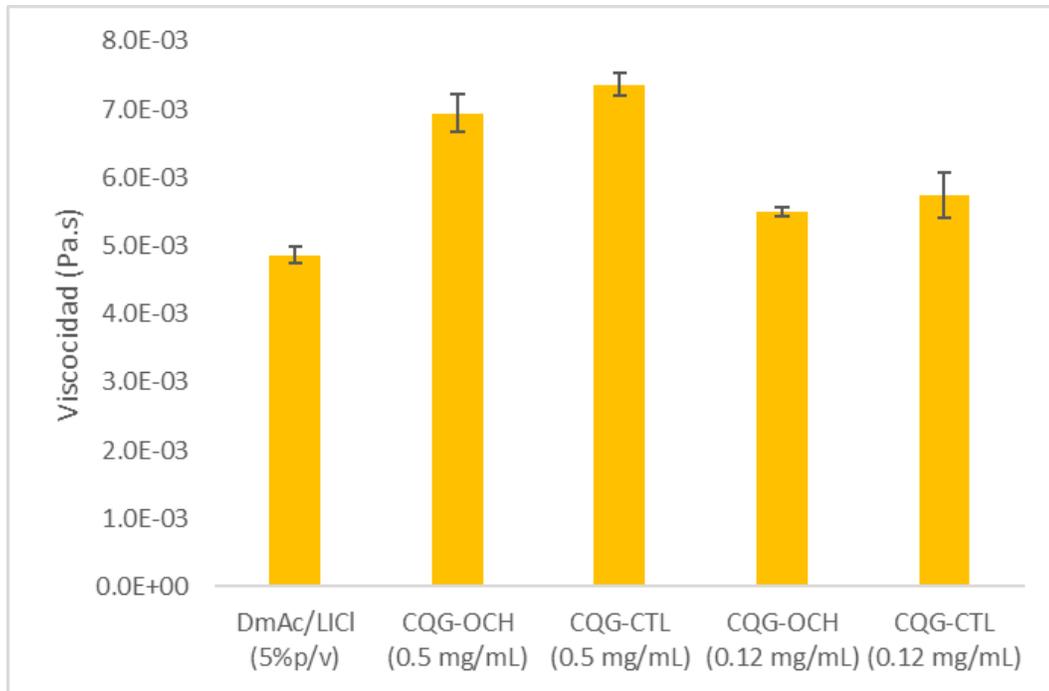


Figura 32. Gráfica de las viscosidades calculadas a partir del análisis reológico del solvente Dimetil acetamida con cloruro de litio (DmAc/LiCl), las películas de CQG tratadas con ondas de choque (CQG-OCH) y sin tratamiento (CQG-CTL).

A partir de las viscosidades medidas con el reómetro, se calcularon los valores de M_v de cada muestra presentados en la tabla 6, donde se observa que la quitina comercial tiene un peso molecular mayor que las muestras CQG-OCH y CQG-CTL, con una diferencia de más de 100 kDa. La muestra CQG-CTL tuvo un M_v de 540.2 Da más que la muestra CQG-OCH.

Tabla 6. Pesos moleculares en viscosidad resultantes de la medición de viscosidad por reología de quitina comercial (Cc) y de las películas de CQG tratadas con ondas de choque (CQG-OCH) y sin tratamiento (CQG-CTL).

Muestras	M_v (Da)
Cc	143,121.80
CQG-OCH	11,731.86
CQG-CTL	12,272.38

La diferencia de M_v entre las películas CQG-OCH y CQG-CTL podría sugerir que las ondas de choque tienen un impacto ligero en el peso molecular de las cadenas poliméricas. Sin embargo, esto debe ser corroborado con más réplicas experimentales y la distribución completa de pesos moleculares del material empleando técnicas cromatográficas, como la cromatografía por permeación en gel (CPG) (Chen, et al., 2021).

8.5. Microscopía electrónica de barrido: morfología de las películas

La morfología de las muestras comerciales Cc y Qc, se puede observar en la figura 33, presentando estructuras granulares pequeñas (figura 33a y c) con superficies lisas (figura 33b) para la quitina comercial, mientras que en el quitosano se observaron gránulos más grandes (figura 33d y f) y con superficies aparentemente más rugosas (figura 33e).

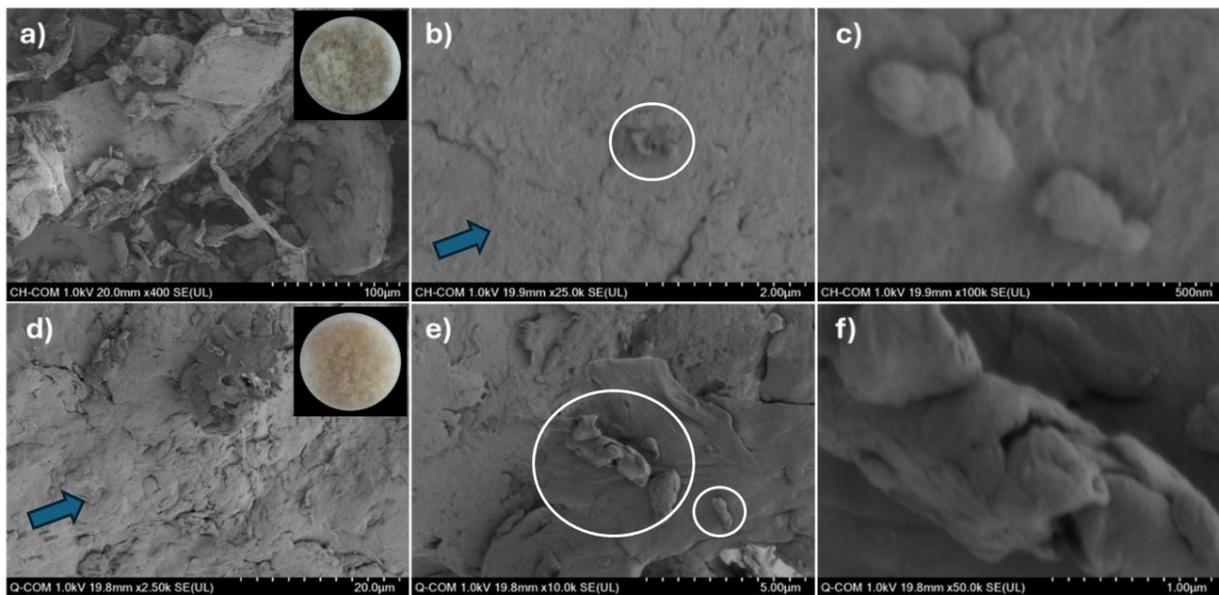


Figura 33. Micrografías de las muestras de quitina comercial con magnificaciones de a) 400, b) 25 k y c) 100 k aumentos, y de quitosano comercial con magnificaciones de d) 2.5 k, e) 10 k y f) 50 k aumentos, con imágenes fotográficas de a) quitina y d) quitosano en polvo.

Por otro lado, las películas de CQG de *A. niger* (figura 34), presentaron morfologías distintas a las de sus contrapartes comerciales provenientes de exoesqueleto de crustáceos. En las micrografías de ambas películas se pudo notar que estas están conformadas por hifas traslapadas en diferentes orientaciones (figura 34b y e), formando un entramado.

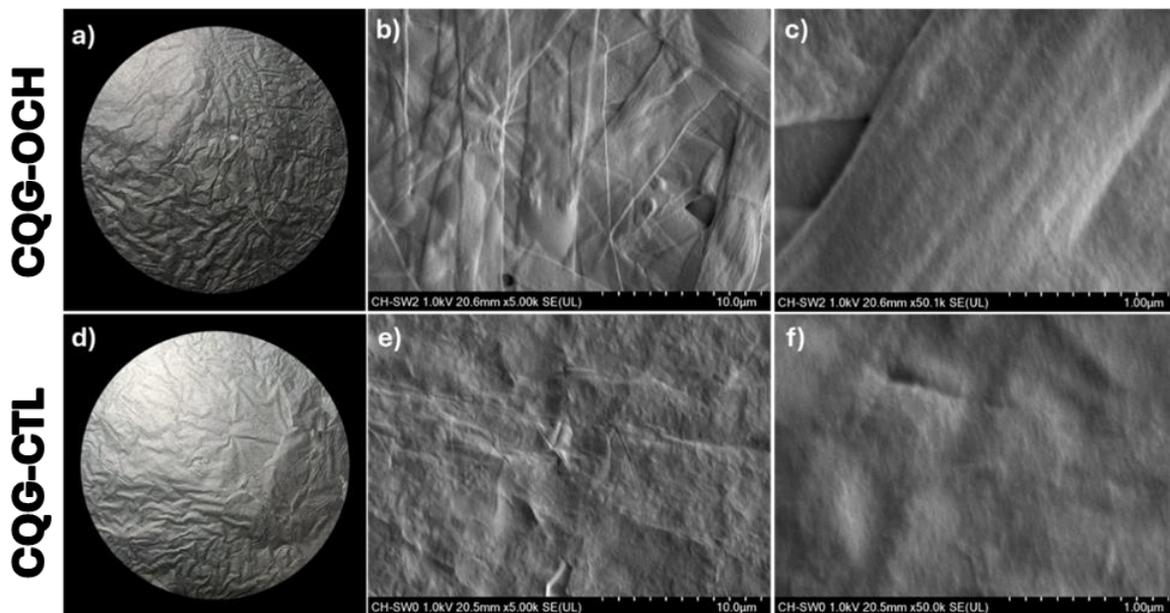


Figura 34. Imágenes fotográficas de; a) las películas CQG-OCH y d) CQG-CTL junto con sus respectivas micrografías de SEM a (b y e) 5k y (c y f) 50k aumentos.

Para el caso de las películas tratadas con ondas de choque (figura 34a), es posible distinguir los límites entre las hifas. Se observa que preservan su integridad estructural. Incluso los septos (las separaciones entre células de la hifa) y el ápice (la zona terminal de la hifa) se aprecian con mejor nitidez (figura 34b y c). En contraste, es más difícil distinguir las estructuras de las hifas en las películas sin tratamiento (figura 34d), ya que la superficie presenta menos relieves (figura 33e) y las hifas parecen estar fusionadas entre sí (figura 33f).

Las diferencias en la morfología de las películas pueden deberse a que las ondas de choque provocan que la masa fúngica se disgregue, separando las hifas y permitiendo que la solución alcalina actúe sobre una mayor área superficial.

8.6. Análisis por difracción de rayos X

8.6.1. Identificación de planos cristalográficos

El patrón de difracción resultante de las películas CQG-OCH y CQG-CTL se muestra en la figura 35, junto con los patrones de difracción de muestras comerciales de quitina (Cc) y quitosano (Qc). Mediante la tarjeta cristalográfica de la quitina, obtenida en la base de datos del Centro Internacional para la Información de Difracción (ICDD, por sus siglas en inglés) en el archivo de difracción de polvos PDF 00-065-0890 (Deschamps, 2013), se identificaron los

planos cristalinos correspondientes a la quitina α , que coincidieron con el patrón de la quitina comercial.

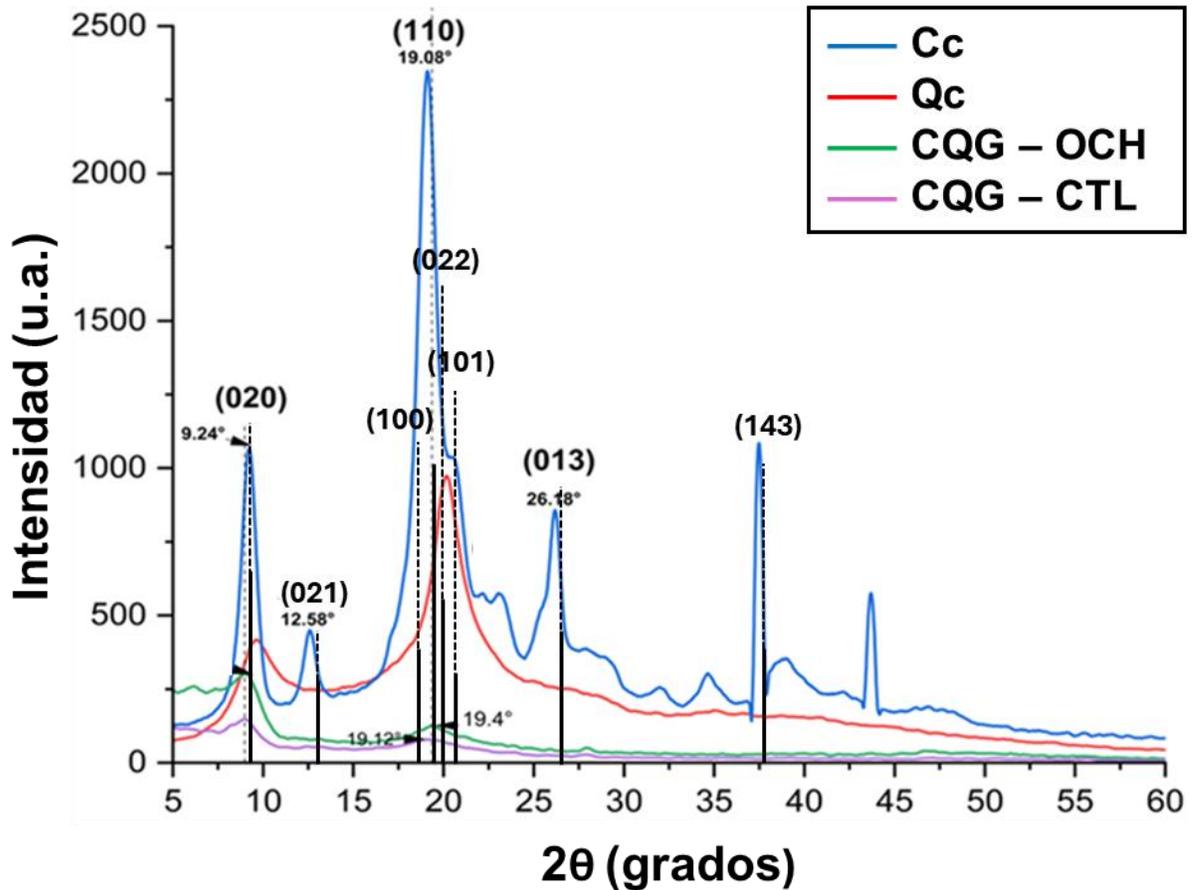


Figura 35. Patrón de difracción de la quitina (Cc) y quitosano (Qc) comercial, junto con el de las películas tratadas con ondas de choque (C-CQG-OCH) y sin tratamiento (C-CQG-CTL). Se muestran indexados los planos correspondientes a la quitina comercial de acuerdo con la tarjeta PDF 00-065-0890.

Por otro lado, las películas de CQG-OCH y CQG-CTL, aunque con menor intensidad, muestran los mismos picos principales correspondientes a los planos (020) y (110). Cabe resaltar que en el patrón de Cc aparecen dos picos muy estrechos e intensos cerca de los valores $2\theta = 38^\circ$ y $2\theta = 44^\circ$, que no corresponden al patrón de la quitina y que podrían estar relacionados con impurezas de minerales residuales. Dichos picos solo aparecieron en las muestras de Cc.

En las muestras CQG-OCH y CQG-CTL se observa un pico alrededor de los 6° , que no se encuentra en los patrones de las muestras comerciales Cc y Qc (figura 36). Esto se relaciona con la presencia de los glucanos β -(1,3/1,6), los cuales han

sidio reportados para otras extracciones de quitina, tanto de *A. niger* como de hongos como *Komagataella pastoris* (Farinha, et. al., 2015) y *Pleurotus Ostreatus* (Ayser, et. al., 2024). Además, Novák et al. (2012) reportaron que el β -(1,3/1,6) glucano presenta un pico de difracción muy amplio en el intervalo de $15^\circ - 28^\circ$, además del pico a 6° antes mencionado.

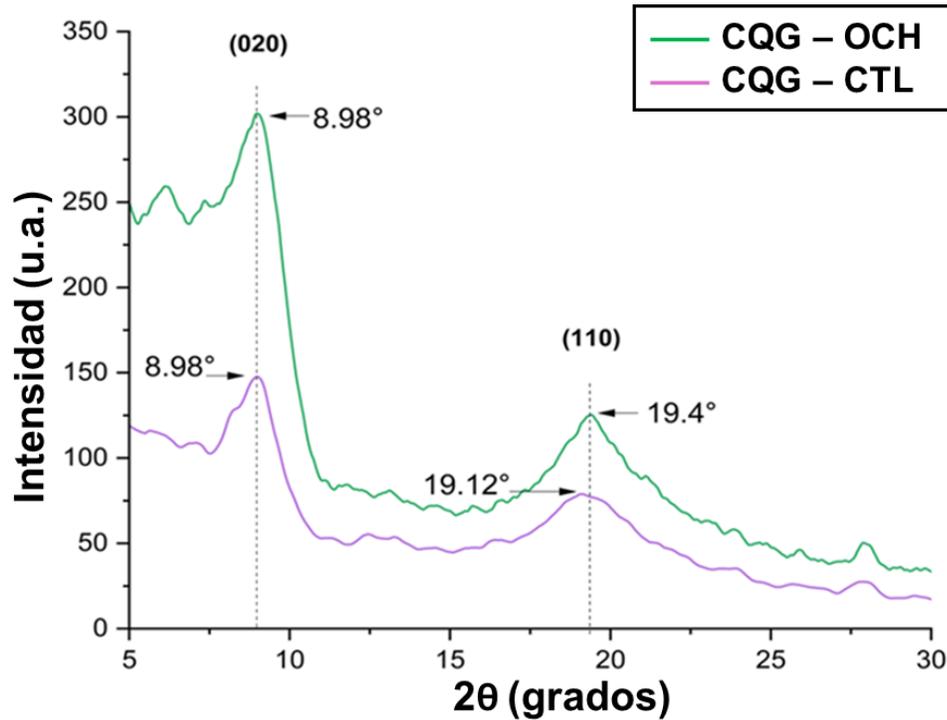


Figura 36. Patrón de difracción de CQG-OCH y CQG-CTL, donde se resaltan los dos planos difractados principales correspondientes a la estructura polimórfica α quitina.

8.6.2. Tipo polimórfico de quitina

Junto con el análisis por FT-IR, el patrón de difracción por XRD permite determinar el tipo polimórfico de la quitina presente en el CQG. El tipo polimórfico α es caracterizado por mostrar picos de difracción a $2\theta = 9.6^\circ$, 19.6° , 21.1° y 23.7° , mientras que el γ , que tiene un patrón de difracción similar al α , ya que exhibe dos picos principales a $2\theta = 9.6^\circ$ y 19.8° . Por otro lado, el tipo polimórfico β presenta picos menos angostos en las posiciones $2\theta = 9.1^\circ$ y 20.3° (Jang, et. al., 2004). Kaya et al. (2017) reportaron que el primer pico se encontraba en $2\theta = 9.46^\circ$, 8.59° y 9.35° para α , β y γ respectivamente, mientras que α y γ mostraron un segundo pico estrecho en $2\theta = 12.74^\circ$ y β lo presenta de forma muy débil a $2\theta = 12.29^\circ$.

De acuerdo con lo reportado por Farinha et al. (2015), la quitina del CQG de *A. niger* comercial (Kiosmetine) es del tipo α , registrando cuatro picos principales en $2\theta = 9.4^\circ$, 19.3° , 20.9° y 26.3° . En cambio, el CQG extraído en este trabajo presenta un pico principal a 8.98° en ambos CQG-OCH y CQG-CTL y otro a 19.4° para CQG-OCH y 19.12° en CQG-CTL. No obstante, es importante resaltar que la estructura cristalina de la quitina cambia con la disminución del grado de acetilación (DA) y la diferencia en el peso molecular. Es decir, el patrón de difracción cambia al tratarse de quitosano en lugar de quitina y depende si este proviene de una quitina α , β o γ . Jampafuang, Tongta & Waiprib (2019) reportaron los patrones de difracción de muestras de quitosano α y β con diferentes DA y pesos moleculares, señalando que el quitosano β pierde intensidad considerable del pico de difracción a aproximadamente 10° correspondiente al plano (020), comparado con el quitosano α , el cual presenta ese pico con mayor intensidad, además del segundo cerca de los 20° .

Tomando en cuenta que las películas CQG-OCH y CQG-CTL tienen valores bajos de DA ($31.49 \pm 2.19\%$ para CQG-OCH y 27.52 ± 1.39 para CQG-CTL) y bajos pesos moleculares (11.73 kDa para CQG-OCH y 12.27 kDa para CQG-CTL), la presencia intensa del pico a 8.98° junto con el pico a 19.4° sugiere que el tipo polimórfico de quitina en el complejo es α . Cabe resaltar que el plano (020) presenta una mayor intensidad que el plano (110) tanto en las películas CQG-OCH como las CQG-CTL. Esto es debido a una orientación preferencial, evidenciada por el coeficiente de textura (TC, por sus siglas en inglés) calculado para ambos planos, siendo $TC_{(020)}$ de 1.53 para CQG-OCH y 1.44 para CQG-CTL, mientras que $TC_{(110)}$ fue de 0.55 para CQG-OCH y 0.60 para CQG-CTL.

8.6.3. Índice de cristalinidad

Los índices de cristalinidad de las películas CQG-OCH y CQG-CTL se muestran en la tabla 7. También se reporta el CI obtenido para muestras comerciales de quitina y quitosano, cuya fuente es el exoesqueleto de camarón. Estos presentaron un CI superior. Además, el CI reportado de CQG para otros hongos también fue mayor al obtenido en este trabajo, a excepción del CQG que resultó de *Coprinus comatus*.

Tabla 7. Índices de cristalinidad de las películas de CQG tratadas con ondas de choque y sin tratamiento, comparado con otras fuentes de quitina, tanto comerciales como experimentales.

Fuente	Método de extracción	CI (%)	Referencia
<i>Aspergillus niger</i>	Método químico asistido por ondas de choque	43.544 ± 2.287	Este trabajo
	Método químico	44.151 ± 2.233	
Exoesqueleto de camarón	Quitina comercial (Sigma Aldrich)	90.872	
	Quitosano comercial (Sigma Aldrich)	75.22	
<i>A. niger</i>	CQG comercial (KiOsmetine®)	62	(Farinha et. al., 2015)
<i>Komagataella pastoris</i>	Método químico	50	
<i>Tremella fuciformis</i>	Método químico asistido por ultrasonido	54.25 ± 1.04	(Chen et. al., 2021)
<i>Coprinus comatus</i>	Método químico	25.4	(Zhang, et. al., 2022)

El aparentemente bajo CI podría deberse a que el pico correspondiente al plano (110) es ancho y poco intenso (figura 34), lo cual puede estar relacionado con la presencia de glucanos β -(1,3/1,6) que aumentan el carácter amorfo del complejo, además de la presencia de algunas proteínas y lípidos evidenciados por FT-IR. Finalmente, al comparar el CI de las películas CQG-OCH y CQG-CTL se observó una diferencia mínima entre ellos, lo que sugiere que el uso de ondas de choque en la extracción no implica un cambio significativo en la cristalinidad del complejo biopolimérico extraído.

8.7. Análisis eléctrico

Inicialmente se analizaron los resultados de la prueba del montaje experimental descrita en la sección 7.5.2 para determinar el valor más preciso de R_{lim} y tener las bases necesarias para la propagación de incertidumbres en todas las mediciones. Posteriormente, se evaluaron las películas CQG-OCH y CQG-CTL en dos apartados. En el primero se determinó el rompimiento eléctrico (E_{br}) a partir de las gráficas de I vs V_Q , mientras que en el segundo se evaluó la resistividad de cada muestra por medio de las gráficas ρ vs V_Q , para analizar el comportamiento de tipo varistor que presentan las películas.

8.7.1. Prueba del montaje experimental

En la figura 37 se presenta la tabla de las 25 parejas de valores medidos, así como la gráfica I vs V_F y los resultados obtenidos del ajuste lineal por el método de mínimos cuadrados (Baird, 1962); la pendiente (m), ordenada y abscisa al origen (I_o y V_o , respectivamente), sus incertidumbres (desviaciones estándar) y el coeficiente de correlación (r) de los datos. Este último resultó ser muy elevado, debido a que la fuente de voltaje utilizada tiene una linealidad similar y los elementos restantes del circuito son resistencias cuyos valores no dependen de la corriente y el voltaje aplicados (dentro de sus regímenes de operación).

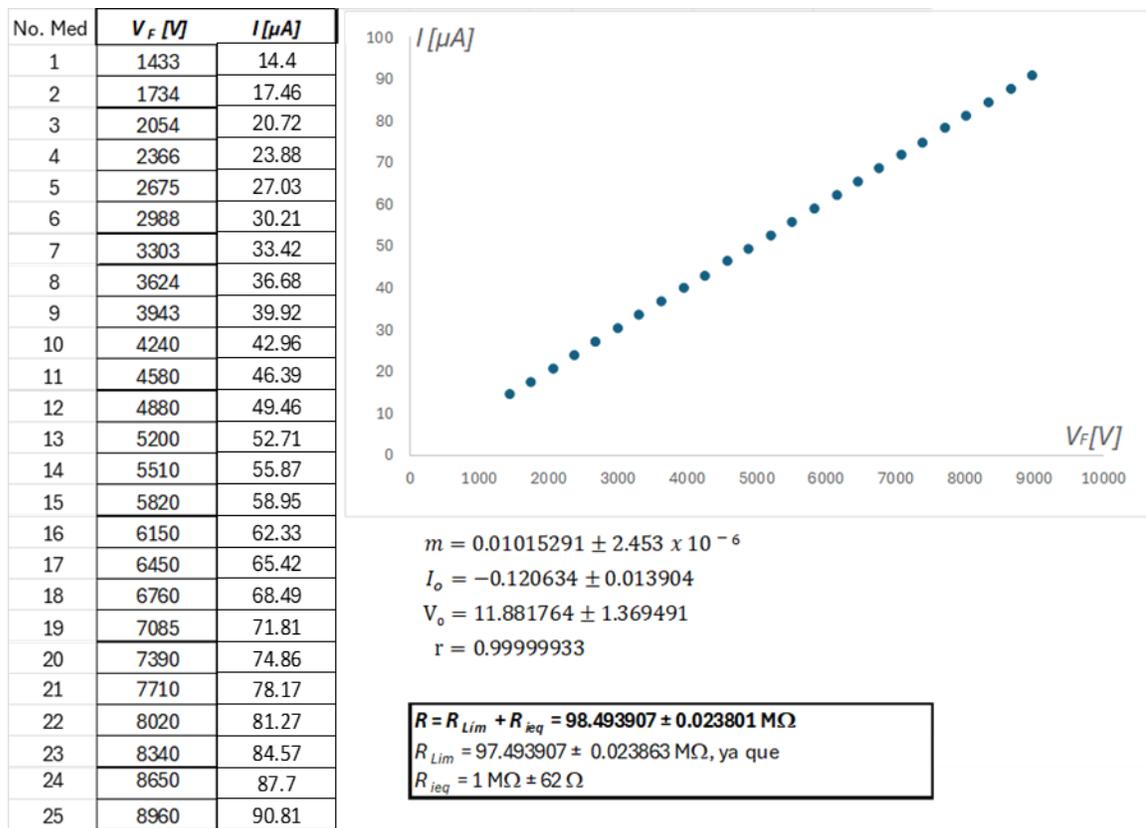


Figura 37. Tabulación y gráfica de la corriente (I) vs voltaje de fuente (V_F), a partir de los cuales se determinó el valor de la resistencia limitadora de corriente (R_{Lim}) con incertidumbre menor a 0.025 %.

Teóricamente, tanto la ordenada como la abscisa al origen debieron resultar nulas, pero sus pequeños valores obtenidos sólo reflejan que el control de voltaje de la fuente no empieza precisamente desde 0 V (y hasta 30 kV), sino como lo especifica su fabricante (desde 30 V y hasta 30 kV). Si se desprecian dichos valores por un simple corrimiento del origen de coordenadas, la pendiente de la

recta no cambia y su recíproco equivale al valor R de las resistencias en serie involucradas ($R_{Lím} + R_{ieq}$), que resultó ser de $98.494 \text{ M}\Omega$, con una incertidumbre de $\pm 0.024 \text{ M}\Omega$ obtenida mediante el cociente de la derivada de la pendiente (dm) entre la pendiente al cuadrado (m^2) (dm/m^2).

Con la magnitud e incertidumbre de R_{ieq} determinadas desde la sección 7.5.2, fue posible asignar a $R_{Lím}$ el valor de $97.494 \text{ M}\Omega \pm 0.024 \text{ M}\Omega$, aunque para las mediciones de las películas del CQG fue preferible operar con el valor de ($R_{Lím} + R_{ieq}$), ya que este aparece como tal en las ecuaciones 18 y 19 antes mencionadas.

8.7.2. Rompimiento eléctrico

El rompimiento eléctrico de las películas de CQG se puede observar en la gráfica $I - V_Q$ de la figura 38, y en las tablas 8 y 9, donde se describen los valores de voltaje de la fuente (V_F) y la corriente (I) a partir de los cuales se calcularon los valores de R_Q y ρ de las películas, junto con sus incertidumbres respectivas.

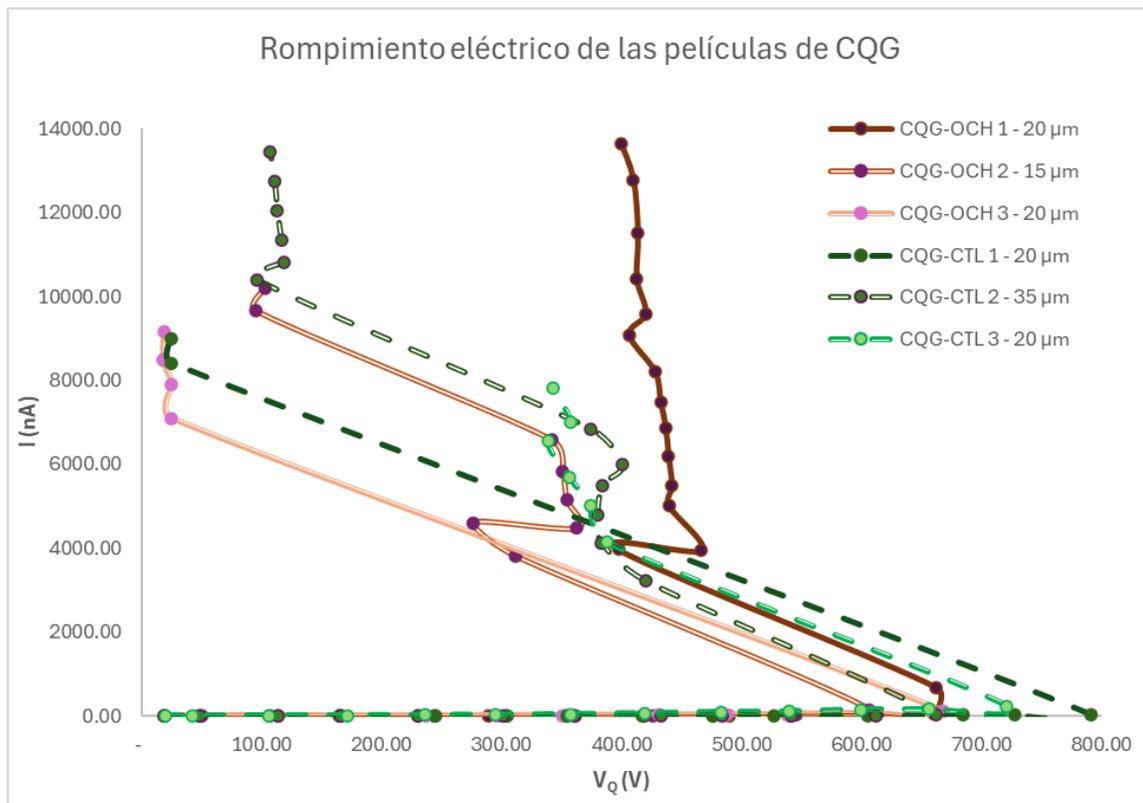


Figura 38. Gráfica de la corriente en el circuito (I) contra el voltaje a través de la película (V_Q), para las películas tratadas con ondas de choque (CQG-OCH) y sin tratamiento (CQG-CTL).

En la gráfica de la figura 38 se observa que la corriente se mantiene baja desde los 30 V hasta alrededor de 600 V, lo cual se relaciona con que las películas presentan una alta resistencia en ese intervalo de voltajes. Para valores de V_Q mayores a 600 V, se comenzó a observar el rompimiento eléctrico de las películas, caracterizado por el incremento abrupto de la corriente, junto con una disminución de V_Q , ya que, al ocurrir el rompimiento eléctrico, la película se vuelve conductora, por lo que es de esperar que el voltaje en la muestra disminuya.

Comparando el rompimiento eléctrico de las películas CQG-OCH con respecto a las CQG-CTL resaltan algunas similitudes en el comportamiento posterior al rompimiento. CQG-OCH 1 y CQG-CTL 3 presentan una resistencia remanente después del rompimiento, ya que V_Q se mantiene en un intervalo de 330 a 500 V mientras que la corriente sigue incrementando. CQG-OCH 2 y CQG-CTL 2 presentan un comportamiento similar; sin embargo, ocurre un segundo rompimiento alrededor de los 350 V. Por el contrario, las muestras CQG-OCH 3 y CQG-CTL 1 rompen drásticamente, llegando cerca del valor inicial de V_Q . Los comportamientos observados después del rompimiento pueden estar relacionados con impurezas o imperfecciones en el sólido que facilitan la formación de canales por los que la corriente puede fluir (Wang, et al., 2023).

Tabla 8. Valores obtenidos de corriente (I), resistencia (R_Q) y resistividad (ρ) para los triplicados de las películas CQG-CTL 1 (a), 2 (b) y 3 (c) con sus incertidumbres respectivas antes y después del rompimiento.

CQG-CTL- 20 μm de espesor									
a)	Rompimiento eléctrico	Antes		Después					
		V_F (V)	dV_F (V)	I (nA)	dI (nA)	R_Q (G Ω)	dR_Q (G Ω)	ρ (G Ωm)	$d\rho$ (G Ωm)
		165.5	4.324	1.431	0.0550	115.5419	7.4665	18.1493	5.8009
		245.0	4.960	2.215	0.0551	110.5036	4.9889	17.3579	5.2099
		305.0	5.440	3.113	0.0551	97.8636	3.4822	15.3724	4.4669
		355.0	5.840	4.124	0.0552	85.9775	2.5684	13.5053	3.8473
		418.0	6.344	5.691	0.0553	73.3464	1.8287	11.5212	3.2252
		477.0	6.816	7.474	0.0555	63.7266	1.3857	10.0102	2.7703
		528.5	7.228	9.646	0.0556	54.6888	1.0652	8.5905	2.3579
		607.0	7.856	13.891	0.0560	43.5980	0.7415	6.8484	1.8628
		687.0	8.496	20.626	0.0565	33.2092	0.5031	5.2165	1.4092
		730.5	8.844	25.070	0.0568	29.0392	0.4188	4.5615	1.2290
		795.5	9.364	37.471	0.0644	21.1311	0.2863	3.3193	0.8914
	Después	853.0	9.824	8408.261	0.7416	0.0030	0.0012	0.0005	0.0003
		911.0	10.288	8995.501	0.7891	0.0028	0.0011	0.0004	0.0003

CQG-CTL- 35 μm de espesor									
b)	Rompimiento eléctrico	Antes		Después					
		V_F (V)	dV_F (V)	I (nA)	dI (nA)	R_Q (G Ω)	dR_Q (G Ω)	ρ (G Ωm)	$d\rho$ (G Ωm)
		48	3.384	0.214	0.0549	223.9661	73.2418	20.1032	9.5466
		114	3.912	0.873	0.0550	130.4711	12.7015	11.7111	2.8716
		166	4.328	1.321	0.0550	125.5308	8.5052	11.2676	2.4294
		231	4.848	1.862	0.0550	123.9411	6.2696	11.1249	2.2077
		301	5.408	2.416	0.0551	124.4943	5.0796	11.1746	2.1082
		361	5.888	2.973	0.0551	121.3263	4.2321	10.8902	1.9901
		433	6.464	3.752	0.0552	115.3183	3.4208	10.3509	1.8375
		484	6.872	4.439	0.0552	108.9277	2.9047	9.7773	1.7064
		542	7.336	7.241	0.0555	74.7498	1.5862	6.7095	1.1344
		614	7.912	15.736	0.0561	38.9191	0.6418	3.4934	0.5741
		665	8.320	29.559	0.0571	22.3986	0.3249	2.0105	0.3264
	Después	737	8.896	3215.800	0.3213	0.1307	0.0028	0.0117	0.0020
		790	9.320	4127.400	0.3951	0.0929	0.0023	0.0083	0.0014

CQG-CTL- 20 μm de espesor									
c)	Rompimiento eléctrico	Antes		Después					
		V_F (V)	dV_F (V)	I (nA)	dI (nA)	R_Q (G Ω)	dR_Q (G Ω)	ρ (G Ωm)	$d\rho$ (G Ωm)
		42.5	3.340	1.6112	0.0550	26.28	2.97	4.1280	1.5404
		107.0	3.856	7.6292	0.0555	13.93	0.61	2.1875	0.6642
		173.0	4.384	13.4331	0.0559	12.78	0.38	2.0075	0.5816
		238.0	4.904	19.6330	0.0564	12.02	0.28	1.8887	0.5358
		298.0	5.384	28.0813	0.0570	10.51	0.21	1.6514	0.4629
		361.5	5.892	42.0743	0.0581	8.49	0.15	1.3341	0.3707
		426.5	6.412	67.5597	0.0600	6.21	0.10	0.9761	0.2696
		492.0	6.936	93.5636	0.0620	5.16	0.08	0.8105	0.2229
		550.0	7.400	106.7483	0.0630	5.05	0.07	0.7938	0.2178
		615.0	7.920	153.0296	0.0664	3.92	0.05	0.6158	0.1685
		672.0	8.376	161.3762	0.0671	4.07	0.05	0.6386	0.1745
		745.0	8.960	240.6598	0.0731	3.00	0.04	0.4708	0.1284
	Después	796.0	9.368	4139.9004	0.3961	0.09	0.00	0.0147	0.0042
		868.0	9.944	5014.3005	0.4669	0.07	0.00	0.0117	0.0034

Tabla 9. Valores obtenidos de corriente (I), resistencia (R_0) y resistividad (ρ) para los triplicados de las películas CQG-OCH 1 (a), 2 (b) y 3 (c), con sus incertidumbres respectivas antes y después del rompimiento.

		CQG-OCH - 20 μm de espesor								
		V_F (V)	dV_F (V)	I (nA)	dI (nA)	R_0 (G Ω)	dR_0 (G Ω)	ρ (G Ωm)	$d\rho$ (G Ωm)	
Rompimiento eléctrico	Antes	48.0	3.384	0.335	0.055	143.2546	33.6240	22.502	11.020	
		114.0	3.912	1.158	0.055	98.3105	8.0487	15.443	5.202	
		165.0	4.320	1.734	0.055	95.0301	5.5091	14.927	4.672	
		231.0	4.848	2.446	0.055	94.3231	4.1078	14.816	4.423	
		289.0	5.312	3.032	0.055	95.2326	3.4860	14.959	4.362	
		354.0	5.832	4.054	0.055	87.2215	2.6277	13.701	3.906	
		420.0	6.360	5.123	0.055	81.8787	2.1261	12.861	3.614	
		491.0	6.928	8.822	0.056	55.5585	1.1359	8.727	2.404	
		542.0	7.336	14.448	0.056	37.4142	0.6531	5.877	1.601	
		616.0	7.928	33.710	0.057	18.1751	0.2663	2.855	0.770	
		665.0	8.320	51.792	0.059	12.7413	0.1752	2.001	0.538	
		730.0	8.840	684.436	0.107	0.9680	0.0131	0.152	0.041	
		Después	788.0	9.304	3966.200	0.382	0.1002	0.0023	0.016	0.004
	855.0		9.84	3943.400	0.380	0.1183	0.0025	0.019	0.005	
		CQG-OCH - 15 μm de espesor								
		V_F (V)	dV_F (V)	I (nA)	dI (nA)	R_0 (G Ω)	dR_0 (G Ω)	ρ (G Ωm)	$d\rho$ (G Ωm)	
Rompimiento eléctrico	Antes	50	3.40	0.6823	0.0550	73.186	10.8864	15.3279	7.4660	
		107	3.86	2.1197	0.0551	50.379	3.1304	10.5514	4.2255	
		166	4.33	3.5284	0.0552	46.948	1.9623	9.8328	3.7377	
		245	4.96	5.4339	0.0553	44.989	1.3717	9.4224	3.4752	
		304	5.43	6.4546	0.0554	46.999	1.2457	9.8435	3.5913	
		362	5.90	7.6373	0.0555	47.300	1.1163	9.9065	3.5855	
		427	6.42	9.6041	0.0556	44.362	0.9256	9.2911	3.3373	
		477	6.82	12.6959	0.0559	37.473	0.7022	7.8482	2.8024	
		549	7.39	30.0525	0.0572	18.169	0.2807	3.8054	1.3463	
		622	7.98	154.9972	0.0666	3.914	0.0532	0.8198	0.2885	
		Después	687	8.50	3811.6003	0.3695	0.082	0.0022	0.0171	0.0063
			730	8.84	4609.2004	0.4341	0.060	0.0019	0.0125	0.0046
				CQG-OCH - 20 μm de espesor						
	V_F (V)			dV_F (V)	I (nA)	dI (nA)	R_0 (G Ω)	dR_0 (G Ω)	ρ (G Ωm)	$d\rho$ (G Ωm)
Rompimiento eléctrico	Antes	166.0	4.328	5.4735	0.0553	30.2293	1.0972	4.7484	1.4069	
		238.0	4.904	9.3934	0.0556	25.2382	0.6721	3.9644	1.1363	
		297.0	5.376	15.0209	0.0560	19.6739	0.4316	3.0904	0.8713	
		353.0	5.824	17.9138	0.0563	19.6069	0.3870	3.0798	0.8615	
		434.0	6.472	26.4620	0.0569	16.3022	0.2798	2.5608	0.7097	
		491.0	6.928	35.0562	0.0575	13.9075	0.2206	2.1846	0.6026	
		542.0	7.336	44.5018	0.0583	12.0807	0.1808	1.8976	0.5218	
		615.0	7.920	75.6237	0.0606	8.0338	0.1112	1.2619	0.3456	
		679.5	8.436	116.7448	0.0637	5.7218	0.0754	0.8988	0.2455	
		Después	724.0	8.792	7097.8006	0.6355	0.0035	0.0012	0.0006	0.0003
			802.5	9.420	7893.2607	0.5907	0.0032	0.0012	0.0005	0.0003

En la figura 39 se puede observar una magnificación del comportamiento de las películas antes del rompimiento, permitiendo igualmente identificar los valores de V_{br} necesarios para el cálculo de (E_{br}) descrito en la ecuación 21. Los valores de V_{br} permiten corroborar que el rompimiento eléctrico ocurre primero para CQG-OCH (alrededor de los 665 V), además de notarse un incremento no lineal de la corriente en todas las muestras, lo cual puede tener relación con la variación de la resistividad dependiente del voltaje, que será analizada en la siguiente sección.

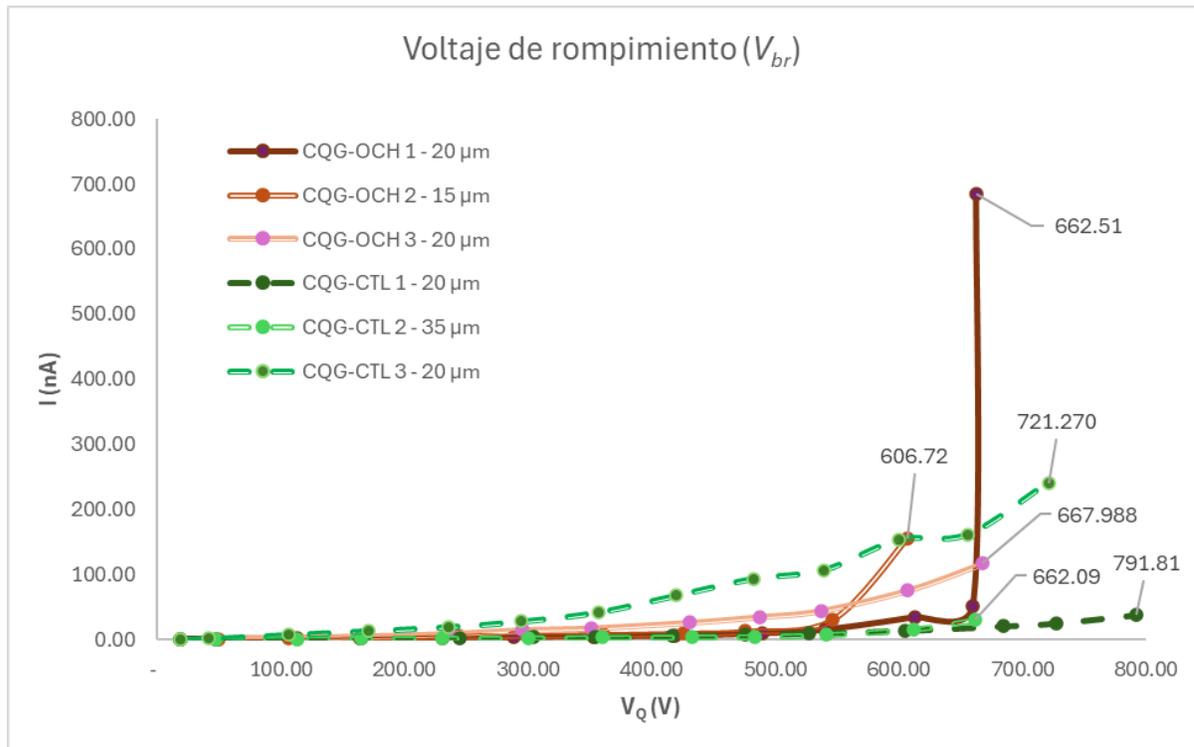


Figura 39. Magnificación de la gráfica de la corriente del circuito (I) contra el voltaje aplicado (V_Q), resaltando los valores de voltaje de rompimiento de cada muestra. CQG-OCH 1, 2 y 3 son películas tratadas con ondas de choque y CQG-CTL 1, 2 y 3 no tuvieron dicho tratamiento.

Los valores del rompimiento eléctrico se encuentran descritos en la tabla 10, junto con los valores correspondientes a otros materiales con propiedades similares. De estos resultados se puede resaltar que el E_{br} de las películas extraídas es mayor que el rompimiento del aire y de la alúmina. Sin embargo, es menor que el de otros polímeros biodegradables y no biodegradables. Por otro lado, se constató que las películas CQG-OCH presentan un rompimiento menor que las CQG-CTL, pero con un error bastante menor que el de las películas CQG-CTL.

Tabla 10. Comparativa de los valores de rompimiento eléctrico de las películas CQG-OCH y CQG-CTL, junto con otros materiales cerámicos (Al₂O₃) y poliméricos a base de petróleo (PBS, XLPE, PVC y Nylon 6).

Material	Rompimiento eléctrico (kV/cm)	Fuente
CQG-OCH	331.87 ± 2.703	Este trabajo
CQG-Ctl	346.29 ± 25.074	
Aire	32	(Hayden, 1922)
PHBV	3750	(Warnakulasooriya, 2022)
PLA	5680	
PBS	2760	
XLPE	4960 - 6200	
PVC	650 - 840	
Nylon 6	5700	

8.7.3. Resistividad eléctrica

La resistividad eléctrica de las películas de CQG se muestra en la figura 40, solamente para los valores V_Q previos al rompimiento eléctrico, determinados en la sección anterior. Cabe resaltar que se graficaron tres réplicas experimentales por cada tratamiento, las cuales presentan valores distintos que serán discutidos más adelante. En general las gráficas consisten en un valor inicial de resistividad alto, que baja considerablemente con los siguientes valores de V_Q calculados. Dichos valores iniciales ($V_Q \sim 19$ V) son considerablemente más altos para las muestras CQG-CTL ($\rho > 300$ G Ω m, < 450 G Ω m) que para las de CQG-OCH ($\rho > 30$ G Ω m, < 100 G Ω m). Posteriormente, al aumentar a $V_Q \sim 45$ V la resistividad de CQG-CTL disminuye hasta un intervalo de ρ entre 4 y 20 G Ω m, mientras que en CQG-OCH el intervalo de ρ es de 14 a 23 G Ω m. Para valores de V_Q entre 105 y 430 V, ρ se mantiene más estable, es decir, teniendo menos variación para las réplicas 1 y 2 de CQG-OCH y la réplica 2 de CQG-CTL. Posteriormente, se observa un decaimiento de ρ desde los 430 V hasta justo antes del rompimiento eléctrico. Por el contrario, las réplicas CQG-OCH 3 y CQG-CTL 1 y 3 presentan una disminución más lineal de ρ desde los 230 V hasta llegar a sus respectivos valores de V_{br} (ver figura 39) sin pasar por la misma etapa de estabilidad que las demás réplicas.

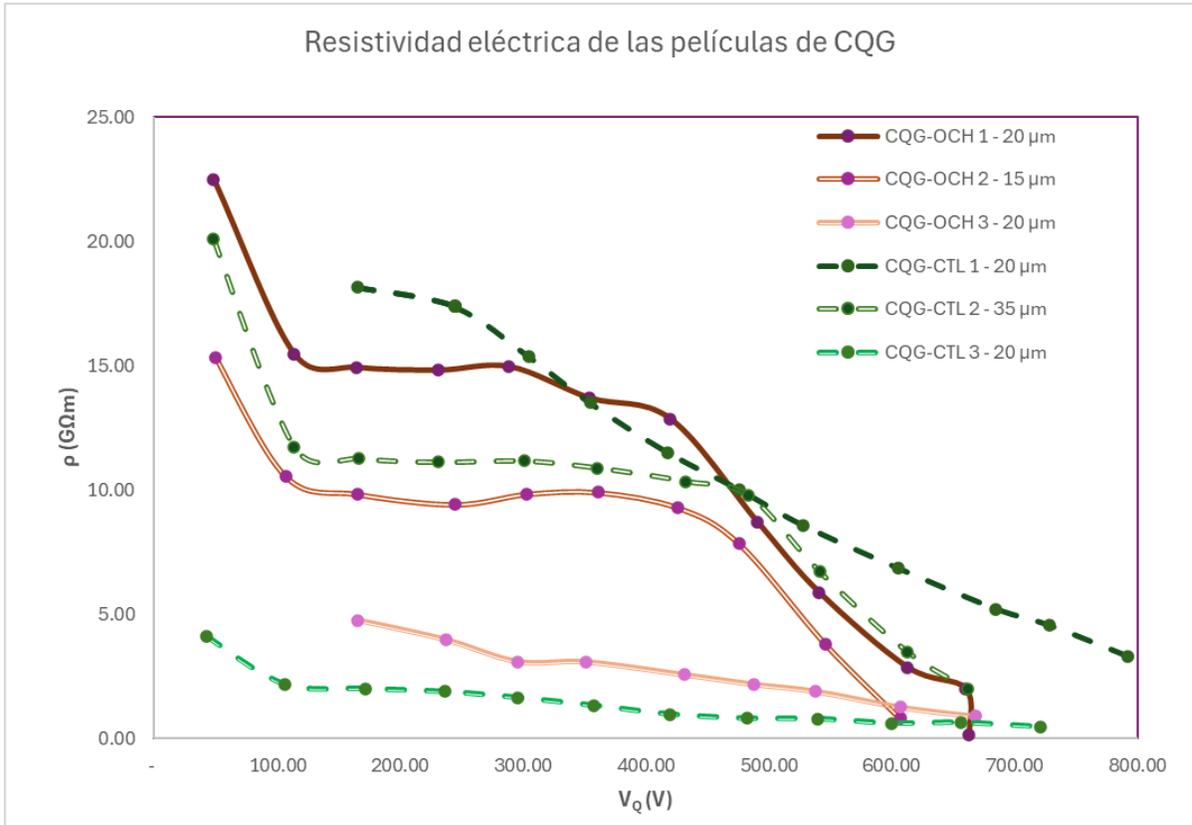


Figura 40. Gráfica de $\rho - V_Q$ de las películas CQG-OCH y CQG-CTL antes del rompimiento y sin el valor inicial de resistividad.

Es notable en la figura 40 que todas las réplicas analizadas presentan valores de ρ distintos. Una variación que fue difícil de controlar al formar las películas es el espesor, ya que al secarse la solución de CQG en los moldes de teflón no se tiene un control en la forma en que se organizan o compactan las películas. Como consecuencia, las réplicas CQG-OCH 2 y CQG-CTL 2 tuvieron espesores distintos, de 15 y 35 μm respectivamente. Esta variación en espesor puede influir en su rompimiento eléctrico, sin embargo, el comportamiento general de ρ para dichas réplicas es similar, pero con valores de ρ menores, a la de CQG-OCH 1 que tiene un espesor de 20 μm . Por otro lado, las réplicas con espesores iguales (20 μm) del mismo tipo de muestra presentan comportamientos distintos entre sí. Por ejemplo, al comparar la réplica 1 y 3 de CQG-OCH se observan que los valores de ρ son muy distintos y que la réplica 3 tiene un comportamiento más lineal. Aunque, si se compara la réplica 3 de CQG-OCH con la 3 de CQG-CTL, los valores de ρ son más cercanos y el comportamiento general es más parecido. Lo mismo se observa las réplicas 1 de CQG-OCH y CQG-CTL.

Las variaciones observadas en el comportamiento de las réplicas experimentales pueden tener relación con la superficie de las películas y la forma en que las estructuras filamentosas que conforman las películas se ordenan. En el análisis por SEM de las películas CQG se observó que las películas control tenían una superficie más lisa, con menos irregularidades, mientras que las películas obtenidas con tratamiento de ondas de choque presentaban irregularidades, denotando la forma de las hifas que conformaban el micelio del *A. niger* (ver imágenes b y e de la figura 34). De acuerdo con la forma aparente en que las películas se forman (las estructuras filamentosas se empalman de manera aleatoria) es probable que haya más irregularidades, poros o grietas no solo en la superficie, sino también en el volumen del sólido. De esta manera, la disminución de ρ puede ser propiciada en las regiones del sólido con más irregularidades. Una posible evidencia de esto está en los primeros valores de resistividad obtenidos para las películas, ya que en CQG-CTL se tuvieron resistividades de alrededor de 200 G Ω m más altas que para CQG-OCH.

Cabe destacar que todas las réplicas presentaron una resistividad que varía con el voltaje, independientemente de las diferencias discutidas previamente. Esto puede tener relación con que todas las películas presentaron estructuras cristalinas muy similares (ver figura 36), teniendo una orientación preferencial en el plano (020), la cual también podría tener una implicación en el comportamiento de tipo varistor.

9. CONCLUSIONES

Con el desarrollo de este trabajo fue posible observar que las películas de CQG obtenidas sí presentan un comportamiento de tipo varistor, incluso en espesores cercanos a 20 μm , para el cual los valores de ρ fueron no lineales con respecto a V_Q para la mayoría de las réplicas. Por otro lado, E_{br} no fue tan alto como el reportado para otros materiales poliméricos. Sin embargo, es posible aumentar este valor incrementando el espesor de la película, de ser necesario. Además, se observó que las ondas de choque parecen reducir ρ y E_{br} en las películas, no obstante, para corroborar este comportamiento se requiere de un mayor número de réplicas.

Mediante la caracterización fisicoquímica de las películas, se logró determinar que estas consisten en un complejo polimérico entre polisacáridos estructurales (quitosano - β -(1,3/1,6) glucanos), proteínas y algunos lípidos residuales, los cuales fueron evidenciados mediante el análisis por FT-IR y el ensayo colorimétrico con BCA para cuantificación de proteínas. Además, se determinó un grado de acetilación bajo en comparación con otros CQG extraídos por métodos similares tanto de la misma especie de hongo como de otras, excepto para los casos en que se trata el complejo para obtener quitosano.

También se observó que el CQG obtenido presenta una mayor estabilidad térmica que el quitosano comercial de crustáceo, pero con un menor índice de cristalinidad. Al analizar la estructura cristalográfica del CQG por XRD, se observó una orientación preferencial notable en el plano cristalino (020), lo cual no se había reportado anteriormente en este tipo de biopolímeros.

Debido a que fue posible observar con mayor claridad la estructura de las hifas entrelazadas que conforman la película, puede concluirse que el uso de ondas de choque en la extracción del CQG influyó en la morfología final de las películas. También se observó que las ondas de choque mejoran la remoción de proteína en el CQG al reducir en 11.96 % el contenido de proteína con respecto a las películas que no tuvieron dicho tratamiento. Además, las películas de CQG obtenidas con ondas de choque presentaron 1.36 % menos contenido de proteína que la quitina de camarón comercial. Por otro lado, el tratamiento con ondas de choque no

generó variaciones significativas en el índice de cristalinidad, grado de acetilación y estabilidad térmica.

10. PERSPECTIVAS

En este trabajo, se analizó la resistividad solo en una dirección (a lo largo del espesor de la película), lo cual permitió tener una idea de su comportamiento, además de conocer el campo eléctrico que resisten las mismas. No obstante, como perspectiva del proyecto, es relevante analizar el material en al menos tres direcciones, para obtener la diagonal del tensor de resistividad que se describe en la ley de Ohm para cada material, lo cual permitiría conocer si el CQG es isotrópico o anisotrópico y, así, evaluar en qué dirección se tendrán las propiedades eléctricas más adecuadas para su aplicación, ya sea como varistor o como material dieléctrico en un capacitor. Para esto último, también sería interesante evaluar el comportamiento de las películas de CQG ante voltajes en corriente alterna, ya que estas podrían presentar un comportamiento variable con la frecuencia, lo cual abriría un campo más amplio de posibles aplicaciones en electrónica.

También resultaría de gran interés averiguar con mayor profundidad si el tratamiento con ondas de choque sí presenta un efecto en la disminución del peso molecular del CQG. Para esto es importante encontrar una mejor técnica para disolver el CQG y así poder evaluar una curva de distribución de pesos moleculares que permita conocer con mayor confiabilidad si hay cambios en el peso molecular, además de diseñar experimentos con modelos de polímeros más sencillos y fáciles de disolver.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Fattah, W. I., Jiang, T., El-Bassyouni, G. E., & Laurencin, C. T. (2007). Synthesis, Characterization of Chitosans and Fabrication of Sintered Chitosan Microsphere Matrices for Bone Tissue Engineering. *Acta Biomaterialia*, 3(4), 503-514. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2006.12.004>
- Adams, D. J. (2004). Fungal Cell Wall Chitinases and Glucanases. *Microbiology*, 150(7), 2029-2035. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26980-0>
- Ahmad, M. B., Fatehi, A., Zakaria, A., Mahmud, S., & Mohammadi, S. A. (2012). Fabrication of an Electrically-Resistive, Varistor-Polymer Composite. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(12), 15640-15652. <https://doi.org/10.3390/ijms131215640>
- Aswani, R., Soni, K. B., & Radhakrishnan, E. K. (2024). Introduction to Circular Economy - A Unique Approach. En E. K. Radhakrishnan, A. Kumar, & R. Aswani. *The Potential of Microbes for a Circular Economy A volume in Developments in Applied Microbiology and Biotechnology*. (pp. 1-24). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15924-4.00011-4>
- Ayser, M., Tonny, W., Hernandez, I. S., Kuriakose, R., Smith, J. D., Wallaert, S. J., Karim, A., Robertson, M. L., & Balan, V. (2024). Fractionating Chitin-Glucan Complex and Coproducts from *Pleurotus Ostreatus* Mushrooms. *Waste and Biomass Valorization*, 15, 2897-2910. <https://doi.org/10.1007/s12649-023-02364-5>
- Baird, D. C. (1962). *Experimentation: An introduction to Measurement Theory and Experiment Design*. Prentice-Hall Inc.
- Begum, S., Kothandapani, Z., & Hashmi, M. S. (2023). Search of Potential Dopants and its Effect on TiO₂-Based Low Voltage Varistor Materials. En A. M. Haseeb. *Encyclopedia of Materials: Electronics*. Vol. 3 (pp. 441-455). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819728-8.00001-2>
- Bikmurzin, R., Bandzevičiūtė, R., Maršalka, A., Maneikis, A., & Kalėdienė, L. (2022). FT-IR Method Limitations for β -Glucan Analysis. *Molecules*, 27(14), 1-14. <https://doi.org/10.3390/molecules27144616>
- Blagodatskikh, I. V., Kulikov, S. N., Vyshivannaya, O. V., Bezrodnikh, E. A., & Tikhonov, V. E. (2017). N-Acetylated Oligochitosan: pH Dependence of Self-Assembly Properties and Antibacterial Activity. *Biomacromolecules*, 18(5), 1491-1498. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b00039>
- Blyte, A. R. (1984). Electrical Resistivity Measurements of Polymer Materials. *Polymer Testing*, 4(2-4), 195-209. [https://doi.org/10.1016/0142-9418\(84\)90012-6](https://doi.org/10.1016/0142-9418(84)90012-6)
- Bouregghda, Y., Satha, H., & Bendebane, F. (2021). Chitin-Glucan Complex from *Pleurotus ostreatus* Mushroom: Physicochemical Characterization and Comparison of Extraction Methods. *Waste and Biomass Valorization*, 12, 6139-6153. <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01449-3>
- Brauer, V. S., Pessoni, A. M., Freitas, M. S., Cavalcanti-Neto, M. P., Ries, L. N., & Almeida, F. (2023). Chitin Biosynthesis in *Aspergillus* Species. *Journal of fungi*, 9(89), 1-42. <https://doi.org/10.3390/jof9010089>

- Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F. M., Argüelles-Monal, W., Desbrières, J., & Rinaudo, M. (2001). An Infrared Investigation in Relation with Chitin and Chitosan Characterization. *Polymer*, *42*(8), 3569-3580. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00713-8](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00713-8)
- Bueno, D. J., & Silva, J. O. (2014). The Fungal Hypha. En C. A. Batt, & M. L. Tortorello. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Vol. 2 (pp. 11-19). Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00132-4>
- Cabrera-Barjas, G., Gallardo, F., Nestic, A., Taboada, E., Marican, A., Mirabal-Gallardo, Y., Avila-Salas, F., Delgado, N., Armas-Ricard, M., & Valdes, O. (2020). Utilization of industrial by-product fungal biomass from *Aspergillus niger* and *Fusarium colmorum* to obtain biosorbents for removal of pesticide and metal ions from aqueous solutions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *8*(5), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104355>
- Cairns, T. C., Nai, C., & Meyer, V. (2018). How a Fungus Shapes Biotechnology: 100 Years of *Aspergillus niger* Research. *Fungal Biology and Biotechnology*, *5*(13), 1-14. <https://doi.org/10.1186/s40694-018-0054-5>
- Cano-Gonzalez, C. N., Bolaina-Lorenzo, E. D., Rodriguez-Herrera, R., Aguilar-Gonzalez, C. N., Morlett-Chavez, J. A., Gomez-Schouben, A. L., Macias-Garbett, R., & Contreras-Esquivel, J. (2021). Microwave-Based Gluconic Acid-Catalyzed Extraction of Chitin-Glucan Extract from Industrial *Aspergillus niger* Biomass with Functional Activities. *SSRN*, 1-32. <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3980372>
- Cantu, D., Greve, C. L., Labavitch, J. M., & Powell, A. L. (2009). Characterization of the Cell Wall of the Ubiquitous Plant Pathogen *Botrytis cinerea*. *Mycological Research*, *113*(12), 1396-1403. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2009.09.006>
- Chen, A., Pan, F., Zhang, T., Yu, C., Xiao, Y., Li, S., Xu, H., Xu, X., Han, M., & Xu, Z. (2021). Characterization of chitin-glucan complex from *Tremella fuciformis* fermentation residue and evaluation of its antibacterial performance. *International Journal of Biological Macromolecules*, *186*, 649-655. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.048>
- Crini, G. (2022). Chitin and Chitosan: Production, Properties, and Applications. En G. Crini. *Chitin and Chitosan: Discoveries and Applications for Sustainability*. (pp. 149-207). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-96119-6.00004-9>
- Deschamps, J. R. (2013). Characterization of Chitin Preparations Using Powder and Film X-ray Diffraction Methods. *Powder Diffraction*, *28*(1), 44-48. <https://doi.org/10.1017/S0885715612000978>
- Farinha, I., Duarte, P., Pimentel, A., Plotnikova, E., Chagas, B., Mafra, L., Grandfils, C., Freitas, F., Fortunato, E., & Reis, M. A. (2015). Chitin-Glucan Complex Production by *Komagataella pastoris*: Downstream Optimization and Product Characterization. *Carbohydrate Polymers*, *130*(5), 455-464. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.034>
- Feofilova, E. P., Nemtsev, D. V., Tereshina, V. M., & Memorskaya, A. S. (2006). Developmental Change of the Composition and Content of the Chitin-Glucan Complex in the Fungus *Aspergillus niger*. *Applied Biochemistry and Microbiology*, *42*(6), 545-549. <https://doi.org/10.1134/S0003683806060032>

- Fernando, L. D., Dickwella Widanage, M. C., Penfield, J., Lipton, A. S., Washton, N., Latgé, J.-P., Wang, P., Zhang, L., & Wang, T. (2021). Structural Polymorphism of Chitin and Chitosan in Fungal Cell Walls From Solid-State NMR and Principal Component Analysis. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8(727053), 1-12. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.727053>
- Free, S. J. (2013). Fungal Cell Wall Organization and Biosynthesis. En T. Friedmann, J. C. Dunlap, & S. F. Goodwin. *Advances in Genetics*. Vol. 81 (pp. 33-82). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407677-8.00002-6>
- Garcia-Rubio, R., Harold, C. d., Rivera, J., & Trevijano-Contador, N. (2020). The Fungal Cell Wall: Candida, Cryptococcus, and Aspergillus Species. *Frontiers in Microbiology*, 10(2993), 1-13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02993>
- Gbenebor, O. P., Adeosun, S., Lawal, G. I., Jun, S., & Olaleye, S. A. (2017). Acetylation, Crystalline and Morphological Properties of Structural Polysaccharides from Shrimp Exoskeleton. *Engineering Science and Technology, an International Journal*, 20(3), 1155-1165. <https://doi.org/10.1016/j.jestch.2017.05.002>
- Gow, N. A., Latge, J. P., & Munro, C. A. (2017). The Fungal Cell Wall: Structure, Biosynthesis, and Function. *Microbiology Spectrum*, 5(10), 1-25. <https://doi.org/10.1128/microbiolspecuaciónfunkt-0035-2016>
- Gu, H., Qin, J., Wen, J., Jia, X., Wang, W., & Yin, H. (2024). Unveiling the Structural Properties and Induced Resistance Activity in Rice of Chitin/Chitosan-Glucan Complex of Rhizoctonia solani AG1 IA Inner Cell Wall. *Carbohydrate Polymers*, 337(122149), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122149>
- Hawksworth, D. L., & Lücking, R. (2017). Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. En J. Heitman, B. J. Howlett, P. W. Crous, E. H. Stukenbrock, T. Y. James, & N. A. Gow. *The Fungal Kingdom*. (pp. 79-95). American Society of Microbiology. <https://doi.org/10.1128/9781555819583.ch4>
- Hayden, J. L. (1922). The dielectric strength of the vacuum: Electrostatic ionization gradient of metal electrodes. *Journal of the American Institut of Electrical Engineers*, 41(11), 8552-8553. <https://doi.org/10.1109/JoAIEE.1922.6591649>
- Jampafuang, Y., Tongta, A., & Waiprib, Y. (2019). Impact of Crystalline Structural Differences Between α - and β - Chitosan on Their Nanoparticles Formation Via Gelation and Superoxide Radical Scavenging Activities. *Polymers*, 11(12), 1-16. <https://doi.org/10.3390/polym11122010>
- Jang, M.-K., Kong, B.-G., Jeong, Y.-I., Lee, C. H., & Nah, J.-W. (2004). Physicochemical Characterization of α -Chitin, β -Chitin, and γ -Chitin Separated from Natural Resources. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, 42(14), 3423-3432. <https://doi.org/10.1002/pola.20176>
- Ji, Q., Wang, P., & He, C. (2016). Extracorporeal Shockwave Therapy as a Novel and Potential Treatment for Degenerative Cartilage and Bone Disease: Osteoarthritis. A Qualitative Analysis of the Literature. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 121(3), 255-265. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2016.07.001>

- Kang, X., Kirui, A., Muszyński, A., Dickwella Widanage, M. C., Chen, A., Azadi, P., Wang, P., Mentink-Vigier, F., & Wang, T. (2018). Molecular Architecture of Fungal Cell Walls Revealed by Solid-State NMR. *Nature Communications*, 9(2747), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05199-0>
- Kawabata, T., & Matsuo, Y. (2018). Chitin Based Fuel Cell and Its Proton Conductivity. *Materials Sciences and Applications*, 9(10), 779-789. <https://doi.org/10.4236/msa.2018.910056>
- Kaya, M., Mujtaba, M., Ehrlich, H., Salaberria, A. M., Baran, T., Amemiya, C. T., Galli, R., Akyuz, L., Sargin, I., & Labidi, J. (2017). On Chemistry of γ -Chitin. *Carbohydrate Polymers*, 176(15), 177-186. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.08.076>
- Kerimov, M. K., Kurbanov, M. A., Sultanahmedova, I. S., Faradzhzade, I. A., Tatardar, F. N., Aliyev, H. S., Yahyaev, F. F., & Yusifova, U. V. (2010). Varistor Effect in Polymer-Semiconductor Composites. *Semiconductors*, 44, 904-911. <https://doi.org/10.1134/S1063782610070134>
- Khavari, M., Priyadarshi, A., Morton, J., Porfyrakis, K., Pericleous, K., Eskin, D., & Tzanakis, I. (2023). Cavitation-induced shock wave behaviour in different liquids. *Ultrasonics Sonochemistry*, 94(106328), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106328>
- Khayrova, A., Lopatin, S., & Varlamov, V. (2021). Obtaining chitin, chitosan and their melanin complexes from insects. *International Journal of Biological Macromolecules*, 167(15), 1319-1328. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.086>
- Koul, B., & Farooq, B. (2020). Mycotechnology: Utility of Fungi in Food and Beverage Industries. En J. Singh, & P. Gehlot. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Recent Advances in Application of Fungi and Fungal Metabolites: Environmental and Industrial Aspects*. (pp. 133-153). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821007-9.00012-7>
- Kumari, S., & Kishor, R. (2020). Chitin and Chitosan: Origin, Properties, and Applications. En S. Gopi, S. Thomas, & A. Pius. *Handbook of Chitin and Chitosan: Preparation and Properties*. Vol. 1 (pp. 1-33). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817970-3.00001-8>
- Li, X., Ding, C., Li, X., Yang, H., Liu, S., Wang, X., Zhang, L., Sun, Q., Liu, X., & Chen, J. (2020). Electronic biopolymers: From molecular engineering to functional devices. *Chemical Engineering Journal*, 397(125499), 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125499>
- Liu, H., Luo, Z., & Rao, Y. (2023). Manipulation of fungal cell wall integrity to improve production of fungal natural products. En G. M. Gadd, & S. Sariaslani. *Advances in Applied Microbiology*. Vol. 125 (pp. 49-78). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.aams.2023.07.005>
- Liu, Y., Sun, G., Li, J., Cheng, P., Song, Q., Lv, W., & Wang, C. (2024). Starter Molds and Multi-Enzyme Catalysis in Koji Fermentation of Soy Sauce Brewing: A Review. *Food Research International*, 184(114273), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114273>
- Loske, A. M. (2007). *Shock Wave Physics for Urologists*. Querétaro: Universidad Nacional Autónoma de México. https://www.researchgate.net/publication/257023480_Shock_Wave_Physics_for_Urologists

- Loske, A. M. (2011). What Are Shock Waves? En N. P. Rao, G. M. Preminger, & J. P. Kavanagh. *Urinary Tract Stone Disease*. (pp. 253-262). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-84800-362-0_22
- Lukes, P., Fernández, F., Gutiérrez-Aceves, J., Fernández, E., Alvarez, U. M., Sunka, P., & Loske, A. M. (2016). Tandem shock waves in medicine and biology: a review of potential applications and successes. *Shock Waves*, 26, 1-23. <https://doi.org/10.1007/s00193-015-0577-0>
- Machová, E., Kogan, G., Chorvatovičová, D., & Šandula, J. (1999). Ultrasonic Depolymerization of the Chitin-Glucan Complex from *Aspergillus niger* and Antimutagenic Activity of its Product. *Ultrasonics Sonochemistry*, 6(1-2), 111-114. [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(98\)00024-8](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(98)00024-8)
- Manabe, N., & Yamaguchi, Y. (2021). 3D Structural Insights into β -Glucans and Their Binding Proteins. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1-13. <https://doi.org/10.3390/ijms22041578>
- Martínez-Maldonado, M. A., Millán-Chiu, B. E., Fernández, F., Larrañaga, D., Gómez-Lim, M. A., & Loske, A. M. (2024). Underwater Shock Wave-Enhanced Cavitation to Induce Morphological Changes and Cell Permeabilization in Microscopic Fungi. *Fluids*, 9(4), 1-16. <https://doi.org/10.3390/fluids9040081>
- Millán-Chiu, B. E., Alarcon-Flores, E. A., Ortiz-Olan, E., Fernández, F., & Loske, A. M. (2023). Extracción de quitina de *Aspergillus niger* asistida por ondas de choque: caracterización fisicoquímica y eléctrica. *Mundo nano*, 16(31), 1e-19e. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2023.31.69796>
- Mishra, S., Singh, J., & Singh, V. (2024). Types and Applications of Potential Antibiotics Produced by Fungi. En K. A. Abd-El Salam, & H. I. Mohamed. *Fungal Secondary Metabolites - Synthesis and Applications in Agroecosystem*. (pp. 493-517). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95241-5.00029-0>
- Muñoz, G., Valencia, C., Valderruten, N., Ruiz-Durantez, E., & Zuluaga, F. (2015). Extraction of Chitosan from *Aspergillus niger* Mycelium and Synthesis of Hydrogels for Controlled Release of Betahistine. *Reactive and Functional Polymers*, 91-92, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2015.03.008>
- Nishiyama, Y., Noishiki, Y., & Wada, M. (2011). X-Ray Structure of Anhydrous β -chitin at 1Å. *Macromolecules*, 44(4), 950-957. <https://doi.org/10.1021/ma102240r>
- Novák, M., Synytsya, A., Gedeon, O., Slepíčka, P., Procházka, V., Synytsya, A., Blahovec, J., Hejlová, A. & Čopíková, J. (2012). Yeast $\beta(1-3),(1-6)$ -D-Glucan Films: Preparation and Characterization of Some Structural and Physical Properties. *Carbohydrate Polymers*, 87(4), 2496-2504. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.11.031>
- Ogawa, K., Yui, T., & Okuyama, K. (2004). Three D structures of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 34(1-2), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2003.11.002>
- Ortiz-Olan, E. (2022). *Implementación de un nuevo método que involucra el uso de ondas de choque para la extracción de quitina a partir del micelio de Aspergillus niger*. [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de México]. UNAM. <https://hdl.handle.net/20.500.14330/TES01000830876>

- Philipp, A., Delius, M., Scheffczyk, C., Vogel, A., & Lauterborn, W. (1993). Interaction of lithotripter-generated shock waves with air bubbles. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 93(5), 2496-2509. <https://doi.org/10.1121/1.406853>
- Pottathara, Y. B., Tiyyagura, H. R., Ahmad, Z., & Thomas, S. (2020). Chitin and chitosan composites for wearable electronics and energy storage devices. En S. Gopi, S. Thomas, & A. Pius. *Handbook of Chitin and Chitosan*. (pp. 71-88). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817966-6.00003-0>
- Reitz, J. R., & Milford, F. J. (1969). *Foundations of Electromagnetic Theory* (2 ed.). California: Addison - Wesley.
- Schlumberger Technologies, I. (1988). 7150plus Digital Multimeter Operating Manual. (2B). Farnborough, Hampshire, England.
- Seoudi, R., & Nada, A. M. (2007). Molecular structure and dielectric properties studies of chitin and its treated by acid, base and hypochlorite. *Carbohydrate Polymers*, 68(4), 728-733. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.08.009>
- Shahlaei, M., & Pourhossein, A. (2013). Biomass of *Aspergillus niger*: Uses and Applications. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 83-89. https://journals.lww.com/jrps/abstract/2013/02010/biomass_of_aspergillus_niger__uses_and.10.aspx
- Tayel, A. A., Moussa, S. H., El-Tras, W. F., Elguindy, N. M., & Opwis, K. (2011). Antimicrobial textile treated with chitosan from *Aspergillus niger* mycelial waste. *International Journal of Biological Macromolecules*, 49(2), 241-245. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.04.023>
- Volk, T. J. (2013). Fungi. En S. M. Scheiner. *Encyclopedia of Biodiversity* (3 ed). Vol. 2 (pp. 771-792). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822562-2.00189-4>
- Wan, A. C., & Tai, B. C. (2013). Chitin- A Promising Biomaterial for Tissue Engineering and Stem Cell Technologies. *Biotechnology Advances*, 31(8), 1779-1785. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.09.007>
- Wang, Q., Deng, Y., Yap, M., Yang, Y., Ma, J., Chern, W. K., Li, J., & Chen, Z. (2023). Electrical Tree Modelling in Dielectric Polymers Using a Phase-Field Regularized Cohesive Zone Model. *Materials & Design*, 235(112409), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2023.112409>
- Warnakulasooriya, L. (2022). *Bio-Polymeric Materials for Electrical Insulation Applications*. [Tesis de maestría, University of Manitoba]. <http://hdl.handle.net/1993/36280>
- Zhang, Z., Zhao, L., Qu, H., Zhou, H., Yang, H., & Chen, H. (2022). Physicochemical Characterization, Adsorption Function and Prebiotic Effect of Chitin-Glucan Complex from Mushroom *Coprinus comatus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 206, 255-263. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.02.152>
- Zhu, L., Huang, Y., Morishita, Y., Uetani, K., Nogi, M., & Koga, H. (2021). Pyrolyzed chitin nanofiber paper as a three-dimensional porous and defective nanocarbon for photosensing and energy storage. *Journal of Materials Chemistry C*, 13, 4444-4452. <https://doi.org/10.1039/D0TC05799A>

ANEXO

Cámara de vacío

Previendo futuras pruebas con muestras de espesores mayores y mediciones más completas del tensor de resistividad, se construyó una cámara de vacío, que consiste en un tubo de PVC de 4" de diámetro, con un espesor de 5/16" y longitud de 10". Uno de sus extremos se selló con un tapón hembra de PVC de 4", mientras que al otro se le maquinó una tapa circular de acrílico de 12 mm de espesor y diámetro de 4", la cual sella herméticamente con un empaque insertado en la pared del tubo (figura 41a), al iniciar el vacío.

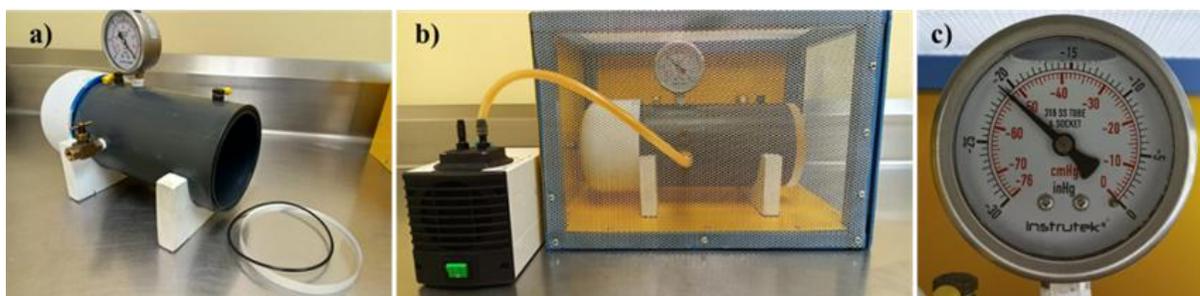


Figura 41. Arreglo para mediciones de ρ y E_{br} en vacío. a) Imagen de la cámara de vacío abierta. b) Imagen de la cámara de vacío sellada dentro de la jaula de Faraday, conectada a una bomba de vacío. c) Vacuómetro incorporado en la cámara de vacío marcando el vacío que se logra en la cámara.

El vacío es regulado – y puede mantenerse por horas – mediante una llave de paso insertada en la pared cilíndrica de la cámara (figura 41a), por donde se conecta a una bomba de vacío (Knf, UN86KTP, Trenton, USA) (figura 41b). También es monitoreado con un vacuómetro (Instrutek 316 SS Tube & Socket, Guadalajara, México) acoplado a la cámara de vacío por la parte superior (figura 41c). Finalmente, se maquinaron orificios para la entrada y salida de voltaje y para la toma de lectura de la corriente. Las uniones y orificios fueron sellados con cinta de teflón y pegamento, logrando tener un vacío de hasta -0.69 atm.