



EVALUACIÓN DEL QUITOSANO A PARTIR DEL GRADO DE DESACETILACIÓN DE LA QUITINA

MARÍA PUERTA¹, HECTOR MONTENEGRO²
Y DENIS VEGA MONTENEGRO³

¹Universidad de Panamá.

Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología.

²Departamento de Química Orgánica. Email: hmontenegro @ yahoo.com.

³Departamento de Química Analítica.

Centro de Investigación con Técnicas Nucleares. Email: denisines @ yahoo.es.

RESUMEN

Se realizó la evaluación del grado de desacetilación del quitosano aislado a partir de cáscaras de camarón utilizando tres técnicas diferentes: valoración potenciométrica, espectroscopía infrarrojo y la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón. Los resultados nos indican que se puede utilizar cualquiera de los tres métodos para la evaluación del grado de desacetilación, dato importante en la evaluación de la calidad del quitosano obtenido, por lo que la selección del método utilizado dependerá del acceso que se tenga al equipo instrumental especializado.

PALABRAS CLAVES

Quitina, quitosano, grado de desacetilación, potencimetría, infrarrojo, RMN, polímero.

INTRODUCCIÓN

La quitina es un polisacárido muy abundante en la naturaleza que se encuentra principalmente en crustáceos, insectos y hongos y posee





una estructura lineal de alto peso molecular constituida por unidades de N-acetil-D-glucosamina unidas por enlaces β -D (1,4). Este polisacárido es altamente insoluble en agua, propiedad que limita sus aplicaciones; se disuelve rápidamente en ácidos concentrados, en algunos fluoroalcoholes y soluciones al 5% de cloruro de litio, lo cual hace que sea una sustancia poco práctica para ser utilizada en estado líquido y además en estado sólido presenta poca reactividad.

Otras propiedades relevantes de este biopolímero son su alto peso molecular y su estructura porosa, favoreciendo una elevada adsorción de agua. Se reporta que la quitina natural posee un grado de acetilación (DA), de 0,66; es decir, una de cada tres de sus unidades se encuentran desacetiladas (Gacén y Gacén, 1996).

La desacetilación parcial de la quitina da lugar al quitosano, que es la forma N-desacetilada y presenta mejores propiedades de reactividad y solubilidad. Esta forma se obtiene al sustituir los grupos acetamido por grupos amino, al tratar la quitina con álcalis fuertes. Se ha descrito que el quitosano es el único polímero catiónico pseudonatural que, al poseer en su estructura una amina alifática primaria, es básico, forma sales con ácidos y origina polielectrolitos a pH menores de 6,5. Ello le confiere al quitosano características especiales que lo hacen útil en una amplia gama de aplicaciones. Ha sido descrito como el biomaterial más versátil de la naturaleza debido a que posee propiedades únicas, como lo son su biodegradabilidad, baja toxicidad y bajo costo; lo que se traduce en casi 200 aplicaciones en áreas como biomedicina, biotecnología e industria alimentaria, entre otras.

El grado de desacetilación del quitosano varía desde un 60 % hasta un 90 % y los pesos moleculares que se reportan van desde 50 hasta 2000 kDa, atribuyéndose esta heterogeneidad a la falta de control durante el procesamiento (Hernández, 2004, López *et al.*, 2010).

El criterio utilizado para distinguir entre quitina y quitosano es precisamente la solubilidad de este último en soluciones ácidas diluidas. El quitosano, por lo tanto, no es una entidad química única y definida, sino que designa a una familia de polisacáridos que varía entre sí en su composición y tamaño molecular. Esta variabilidad se asocia especialmente a las condiciones del proceso de obtención.

Por este motivo, el grado de desacetilación es uno de los parámetros que se deben conocer para caracterizar una muestra de este polisacárido ya que tiene gran incidencia en sus propiedades.





El DA se define, entonces, como la fracción del total de unidades glucosídicas que están acetiladas. A veces, la composición del quitosano se reporta en términos del grado de desacetilación, DD ($DD = 1 - DA$) (Rodríguez *et al.*, 2010).

Para la determinación del grado de acetilación se han reportado distintas técnicas, tales como la espectroscopía de infrarrojo, la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (^1H - ^{13}C -RMN), la primera derivada por espectroscopía UV, la potenciometría y la conductimetría. Otras técnicas alternativas incluyen el análisis elemental, el análisis térmico, la cromatografía de permeación en gel y el dicroísmo circular (Hernández, I., 2004, Brugnerotto *et al.*, 2001).

A través de este trabajo se desea demostrar la posibilidad de utilizar tres técnicas analíticas para la determinación del grado de desacetilación del quitosano, dos de las cuales (IR y RMN) son técnicas instrumentales a las que tienen acceso un limitado número de laboratorios en el país, en comparación con un método tradicional (potenciometría), asequible a cualquier laboratorio de química. De esta manera, los métodos aplicados deben proporcionar resultados comparables.

PARTE EXPERIMENTAL

Extracción de Quitina y Quitosano

La extracción de la quitina y quitosano se llevó a cabo a partir de cáscaras de camarones adquiridas en el mercado local (coordenadas geográficas: $08^{\circ}57'00''\text{N}$ y $79^{\circ}32'00''\text{W}$).

Se procedió a un lavado previo, luego a un proceso de desmineralización y finalmente a un proceso alcalino con control de temperatura riguroso para garantizar la reacción de derivatización de la quitina.

Evaluación del grado de desacetilación

La determinación del grado de acetilación (DA) de la molécula se realizó a través de tres herramientas distintas: valoración espectroscopía infrarroja, valoración potenciométrica, y espectroscopía de resonancia magnética nuclear.





Espectroscopía Infrarroja.

Para obtener el espectro IR del quitosano, se realizaron películas del mismo, preparando una disolución al 1% con ácido acético 0,1 M. Luego, se vertió la disolución en una tablilla plástica y se dejó secar hasta la evaporación del disolvente. Una vez seca la película se extrajo de la tablilla y se procedió a leer la muestra por infrarrojo, empleando un espectrofotómetro *Shimadzu FTIR Affinity*.

Para confirmar su estructura, se considera como banda característica (A_M) a aquella localizada a 1320 cm^{-1} , correspondiente al estiramiento C-N del grupo amida (amida III) con línea de base = $1402\text{-}1478\text{ cm}^{-1}$ y como referencia (A_R) a la banda localizada a 1420 cm^{-1} asignada a la deformación C-H y con línea de base = $1276\text{-}1348\text{ cm}^{-1}$. Estas señales fueron propuestas por Brugnerotto y colaboradores (Brugnerotto *et al.*, 2001), los cuales han reportado una correlación lineal que viene expresada por la siguiente relación:

$$A_{1320}/A_{1430} = 0,3822 + 0,03133 \text{ DA} (\%) \quad R^2 = 0,990$$

Así, el grado de acetilación se obtiene de la siguiente ecuación:

$$\text{DA}(\%) = 31,92 (A_{1320}/A_{1430}) - 12,20$$

Dichos autores proponen que esta calibración es válida para el rango entero de DA y para todo tipo de muestras, independientemente de la composición química, técnica, estado o estructura, ya que sus valores están de acuerdo a los DA determinados por espectroscopía $^1\text{H}\text{-}^{13}\text{C}\text{-RMN}$. Además, estos investigadores plantean que las intensidades y las posiciones de las bandas elegidas no cambian ni con la humedad de la muestra ni con el tipo de puentes de hidrógeno existentes (Desbrières *et al.*, 1996).

Valoración Potenciométrica.

La determinación del contenido de grupos amino en el quitosano se realiza por una titulación potenciométrica ácido-base, la cual consiste en medir las variaciones de los valores de pH al titular una solución de quitosano (Hernández *et al.*, 2009, Parada *et al.*, 2004). El quitosano es disuelto en HCl y titulado con NaOH 0,1 M; valorada previamente con biftalato de potasio como patrón primario. La medición se realizó con un pH-metro metrom para registrar el pH tras la adición de cada mL de base. La adición se realizó en forma lenta y con agitación continua para homo-





geneizar la solución y evitar errores debidos a la posible precipitación del biopolímero. Como resultado se obtiene una curva de titulación con dos puntos de inflexión; la diferencia entre las dos abscisas corresponde a la cantidad de ácido requerido para protonar los grupos amino del quitosano. La concentración del grupo amino está determinada por:

$$\%NH_1 = \frac{16,1 (y - x)}{w} f$$

donde: y = punto de inflexión mayor, expresado en volumen;
 x = punto de inflexión menor, expresado en volumen;
 f = molaridad de la solución de NaOH;
 w = peso en gramos de la muestra y
 $16,1$ = valor relacionado con el peso equivalente del quitosano

Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear

Para preparar la muestra de quitosano, se procedió a pesar una muestra de quitosano, la cual se disolvió en ácido clorhídrico diluido, se congeló y posteriormente se liofilizó. Luego se disolvieron 10 mg de la muestra en agua deuterada y se analizó por resonancia magnética nuclear, empleando un equipo marca Jeol Delta sistema eclipse+ 400 FT NMR magneto OXFORD AS 400 con frecuencia de 400 MHz para 1H . (Desbrières *et al.*, 1996, Porras *et al.*, 2009, (Hernández *et al.*, 2009). El grado de acetilación del quitosano se determinó utilizando las áreas de las señales a 2,1 ppm (perteneciente al metilo del grupo acetato) y las sumas de las áreas de las señales que van de 3.2 a 4.2 ppm (pertenecientes a H2, H3, H4 H5, H6 y H6¹ del anillo de glucosamina) en el espectro de 1H -RMN, de acuerdo con la siguiente fórmula (Desbrières *et al.*, 1996, De Alvarenga, 2011):

$$\% DA = \left[\frac{2 \times A_{CH_3}}{A_{H_2 - H_6}} \right] \times 100$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La extracción de quitina-quitosano se realizó en un reactor de acero inoxidable, luego de un proceso previo de desmineralización. La concentración de álcali, temperatura y tiempo de reacción se optimizó con el propósito de reducir el número de





grupos acetilos en la molécula. La figura 1 muestra la diferencia estructural entre la unidad repetitiva de la quitina y el quitosano.

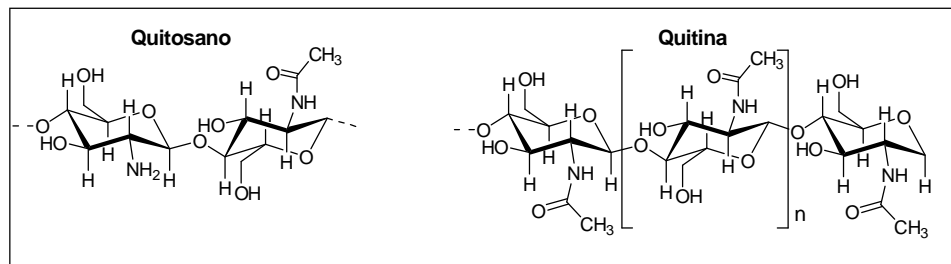


Figura 1. Unidad repetitiva de la quitina y quitosano.

La determinación del grado de acetilación, definida como la fracción molar de unidades glucosídicas N-acetiladas, se corresponde con la hidrólisis en la que el ión hidróxido, fuertemente nucleofílico, ataca inicialmente al átomo de C carbonílico del grupo amida mediante un mecanismo de adición nucleofílica-eliminación (Figura 2).

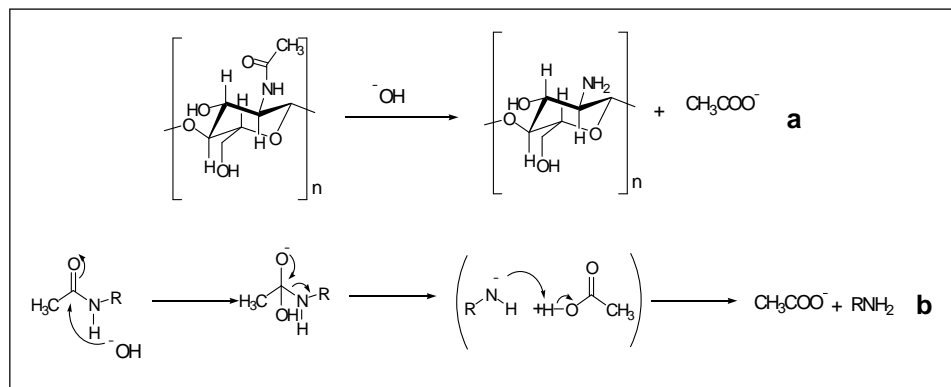


Figura 2. Mecanismo de reacción propuesto para la reacción de desacetilación de la quitina. a) Reacción generalizada, b) Detalle del mecanismo de reacción.

Caracterización química.

Análisis por espectroscopía infrarroja y resonancia magnética nuclear.

El espectro FTIR del quitosano (véase la Figura 3) muestra una banda a 3400 cm^{-1} debida al estiramiento -OH , el grupo -NH_2 aparece a 3200 cm^{-1} ; a 2900 cm^{-1} se evidencia el estiramiento C-H, a 1650 cm^{-1} aparece la vibración de tensión del C=O, a 1550 cm^{-1} se ve la frecuencia de torsión -NH_2 , a 1400 cm^{-1} la torsión -





CH₂-, a 1300 cm⁻¹ la vibración de tensión C-N, el estiramiento simétrico C-O aparece a 1100 cm⁻¹ y el estiramiento C-O-C glucosídico se ve a las frecuencias 900, 650 y 600 cm⁻¹.

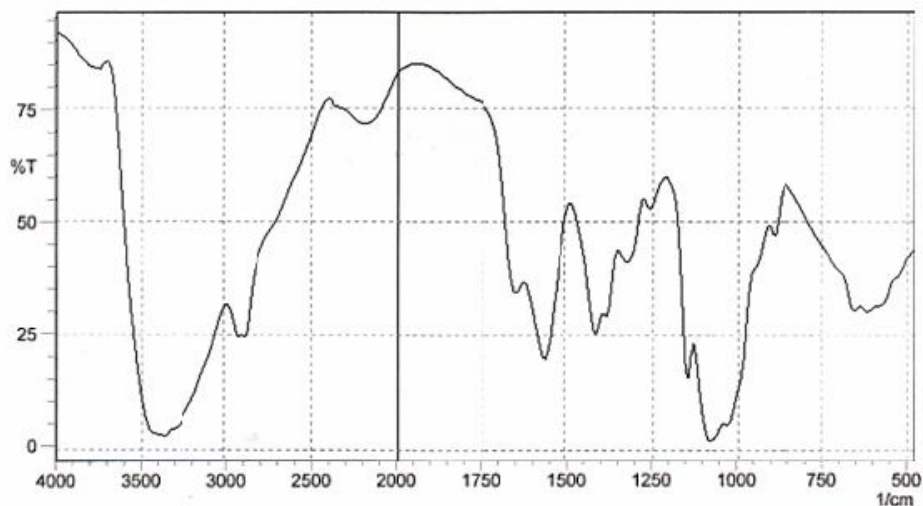


Figura 3. Espectro FTIR del quitosano obtenido.

Así el grado de acetilación se obtiene de la siguiente ecuación

$$DA(\%) = \frac{(0,39/0,60) - 0,3822}{0,03133} = 8,8\%$$

De acuerdo con estos resultados, el grado de desacetilación del quitosano es de 91,2%.

En el espectro de RMN del quitosano se observa un singlete a 2,0 ppm, correspondiente a los protones del grupo metilo de la acetamida, el multiplete que se observa entre 3,12 ppm corresponde al H2 de la D-Glucosamina, el multiplete a 3,68 ppm corresponde al H5 y H6' de la D-Glucosamina y el multiplete que está en 3.87 ppm pertenece a H3, H4 y H6 de la D-Glucosamina. El espectro de RMN se muestra en la Figura 4.



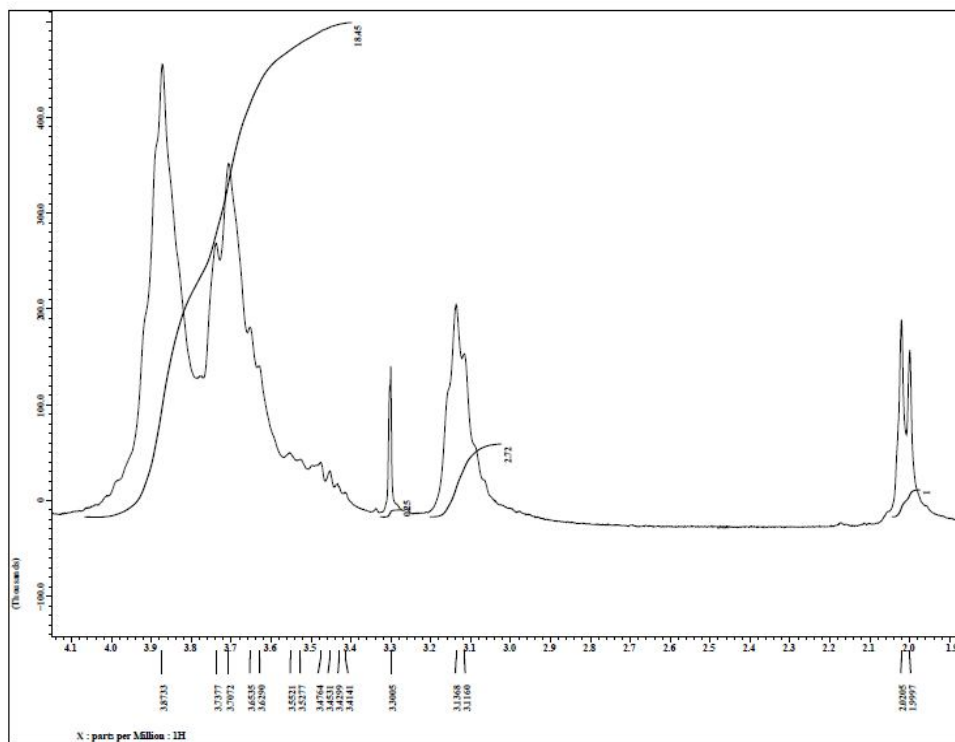


Figura 4. Espectro de ^1H -RMN de quitosano en D_2O .

Para la determinación del grado de acetilación del quitosano utilizando las áreas del espectro de ^1H -RMN se utiliza la siguiente ecuación:

$$\% DA = \frac{2(1,0) \times 100}{21,42} = 9,3\%$$

De acuerdo con estos resultados el grado de desacetilación del quitosano es de 90,7%.

Análisis por Potenciometría.

Los grupos amino en el quitosano se determinaron según el método de titulación que consistió en disolver el polímero en HCl diluido y la valoración de la mezcla con NaOH 0,1 M. Los resultados de la valoración (ver Figura 5), se registraron me-



diante una curva de titulación que posee dos puntos de inflexión, cuyos valores se obtuvieron según el criterio de la primera derivada (dpH/dV) (Figura 6).

La diferencia entre los puntos de inflexión de la curva de titulación (V2-V1) corresponde a la cantidad de ácido necesario para protonar los grupos amino del quitosano (Figura 6).

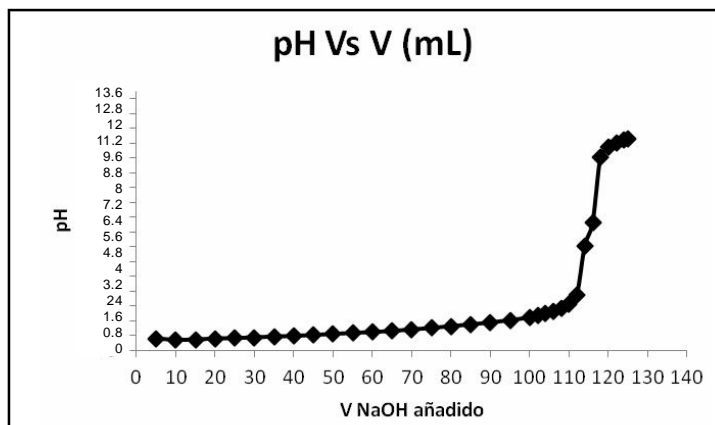


Figura 5. Curva de titulación potenciométrica de una muestra de quitosano.

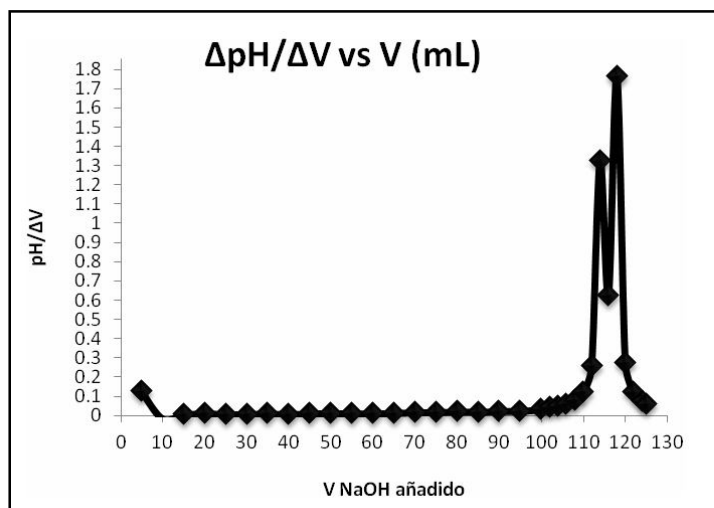


Figura 6. Curva de la primera derivada de la titulación potenciométrica de una muestra de quitosano.





Para determinar el grado de desacetilación de la muestra de quitosano, se procedió de la siguiente manera:

Peso de quitosano (w) = 0,0703 g
Molaridad del NaOH (f) = 0,099 M
y = punto de inflexión mayor (118 mL)
x = punto de inflexión menor (114 mL)

$$\% \text{NH}_2 = \frac{16,1 (118 \text{ mL} - 114 \text{ mL})}{0,0703 \text{ g}} 0,099 \text{ M}$$

Obteniéndose % $\text{NH}_2 = 90,7$

CONCLUSIÓN

Se logró optimizar un proceso tecnológico para la producción de quitosano a partir de los exoesqueletos de camarones, luego de controlar todos los parámetros que pueden influir en la obtención de un producto de alta calidad.

La forma en que se lleva a cabo la desacetilación de la quitina ejerce un efecto directo en la estructura, composición y distribución de las unidades del polímero, lo cual afectará sus aplicaciones.

La caracterización del quitosano por las técnicas empleadas RMN, FTIR y potenciometría presentaron resultados similares con respecto al grado de desacetilación, demostrando que cualquiera de las tres técnicas pueden ser utilizada con seguridad para esta determinación. Sin embargo, la selección de la mejor técnica analítica dependerá de factores como equipo, costo, tiempo de análisis, precisión y tratamiento de la muestra, entre otros. En el caso del análisis por FTIR, la limitante resulta en la homogeneidad y espesor de la lámina de quitosano que conlleva a errores asociados a la línea base del espectro para su cuantificación. Adicionalmente, el secado de la misma tarda varios días.

En cuanto al análisis por RMN, la limitante es la solubilidad de la muestra en el disolvente deuterado, pero una vez solventado este problema se realiza el análisis de manera rápida y precisa, razón por la cual es el método estándar de la ASTM para la determinación del grado de desacetilación.





El análisis potenciométrico conlleva más tiempo de análisis ya que se requiere preparación de los estándares y una titulación lenta para evitar que polimerice el quitosano. A pesar de esta desventaja; el análisis potenciométrico es la técnica utilizada cuando no se tiene acceso a instrumentación.

SUMMARY

EVALUATION OF CHITOSAN BASED ON THE DEGREE OF DEACETYLATION OF THE CHITIN

It was determined the evaluation of the degree of deacetylation of chitosan isolated from shrimp shells by using three different techniques: potentiometric titration, infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance spectroscopy of proton. The results indicate that any of the three methods can be used for evaluating the degree of deacetylation, important fact in evaluating the quality of the obtained chitosan and the choice of the method used will depend on the access to specialized instrumentation equipment.

KEYWORDS

Chitin, chitosan, degree of deacetylation, potentiometry, IR, NMR, polymer.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro agradecimiento a la empresa BIOCHS GREEN LAB y al Centro de Investigación con Técnicas Nucleares (CITEN) ya que gracias a su apoyo se realizó este trabajo de investigación. A la Universidad de Panamá por facilitar los laboratorios y equipos para la realización de este trabajo.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRUGNEROTTO, J.; LIZARDI, J.; GOYCOOLEA, F.; ARGÜELLES-MONAL, W.; DESBRIÉRES, J.; RINAUDO, M. 2001. *Polymer*. 42: 3569-3580.
- DE ALVARENGA, E. 2011. **Biotechnology of Biopolymers**. Chapter 5: Characterization and Properties of Chitosan. Croacia. In Tech. 91-108 pp.
- DESBRIÉRES, J., MARTÍNEZ, C., RINAUDO, M. 1996. Hydrophobic derivatives of chitosan: characterization and rheological behaviour. *Int. J. Biol. Macromol.* 19 (1): 21-28.
- GACÉN J., GACÉN L. 1996. Quitina y Quitosano. Nuevos materiales textiles. *Boletín Intexter* (UPC). 110: 67-71.
- HERNÁNDEZ, I. 2004. La Quitosana, un producto bioactivo de diversas aplicaciones. **Cultivos Tropicales**. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Cuba. 25 (3): 97-110.
- HERNÁNDEZ COCOLETZI, H.; ÁGUILA ALMANZA, E.; FLORES AGUSTÍN, O.; VIVEROS NAVA, E.M; RAMOS CASSELLIS, E. 2009. Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. **Superficies y Vacío**. 22 (3): 57-60.
- LÓPEZ, A.; RIVAS, J.; LOAIZA M.; SABINO, M. 2010. Degradación de Películas Plastificadas de Quitosano Obtenidas a Partir de Conchas de Camarón (*L.vannamei*). **Revista de la Facultad de Ingeniería** U.C.V. 25 (2): 133–143.
- PARADA, L.; CRESPI, G.; MIRANDA, R.; KATIME, I. 2004. Caracterización de Quitosano por Viscosimetría Capilar y Valoración Potenciométrica. **Rev. Iberoam. Polim.**, 5(1): 1-16.
- PORRAS, G.; CALVO, M.; ESQUIVEL, M.; SIBAJA, M.; MADRIGAL-CARBALLO, S. 2009. Quitosano N-Acilado con Cinamaldehído: Un Potencial Bioplaguicida Contra Agentes Patógenos en el Campo Agrícola. **Rev. Iberoam. Polim.**, 10(3): 197-206.
- RODRÍGUEZ HAMAMURA, N.; VALDERRAMA NEGRÓN, A; ALARCÓN CAVERO, H.; LÓPEZ MILLA, A. 2010. Preparación de Partículas de Quitosano Reticuladas con Tripolifosfato y Modificadas con Polietilenglicol. **Rev. Soc. Quím. Perú**. 76 (4): 336-354.

Recibido: 26 de mayo de 2014.

Aceptado: 28 de abril de 2015.



OBITUARIO

El pasado 13 de mayo de 2015 falleció en la Ciudad de Panamá el Dr. Cheslavo Alberto Korytkowski Guillén. El profesor Korytkowski nació en la Ciudad de Arequipa, Perú, el 30 de julio de 1941. Realizó sus estudios de ingeniería, maestría y doctorado en la Universidad Agraria del Norte, Universidad Nacional Agraria La Molina y en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en Lima, Perú. Desempeñándose como profesor-investigador en las dos primeras de ellas.



El profesor Cheslavo Korytkowski, junto con los profesores Abdiel Adames (Q.E.P.D), Alberto Perdomo (Q.E.P.D), Diego Navas (Q.E.P.D) y Octavio Sousa (Q.E.P.D), fue fundador del Programa Centroamericano de Maestría en Entomología de la Universidad de Panamá. Programa de maestría del que fue profesor-investigador hasta el momento de su deceso.

El profesor Korytkowski arribó a suelo panameño a inicios de la década del ochenta de la vigésima centuria, luego de ser seleccionado en un concurso internacional para dar forma al curriculum de una maestría en Entomología. A pesar de que los fondos obtenidos eran para crear una maestría con énfasis en entomología médica, el profesor Cheslavo, con aquella visión que siempre lo caracterizó, propuso una maestría en Entomología con tres énfasis: Médica, Agrícola y General. La que, con pequeñas modificaciones, aun se mantiene funcionando por más de 30 años.

Agrónomo de formación, el profesor Cheslavo era una autoridad a nivel mundial en el llamado grupo de moscas de la fruta. Publicó decenas de artículos científicos y varios capítulos de libros sobre este tema. Sus manuales de clases son la base de muchos de los cursos que se dictan actualmente en el Programa Centroamericano de Maestría en Entomología.

Educador incansable dedicó gran parte de su vida a la formación de profesionales en la rama de la Entomología, los cuales se encuentran hoy laborando a través de todo el continente.

Abnegado profesional, el Dr. Cheslavo Alberto Korytkowski Guillén hoy nos deja un legado en el campo de la Entomología el cual perdurará por siempre. Hasta siempre querido maestro, colega, compañero y amigo.





INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES

Política

El propósito de la Revista **Scientia** es publicar resultados de investigación originales e inéditas, en ciencias básicas y tecnología. La Revista se reserva el derecho de aprobar o rechazar los trabajos presentados a su consideración. Los originales de los trabajos aprobados permanecerán en los archivos del Editor.

Los trabajos aceptados serán publicados bajo entendimiento de que el material presentado, o parte del mismo, no ha sido publicado previamente, ni tampoco esté siendo considerado para su publicación en otra revista, siendo los autores los únicos responsables por la exactitud y la veracidad de los datos y afirmaciones presentadas, y también por obtener, cuando el caso lo requiera, los permisos necesarios para la publicación de los datos extraídos de trabajos que ya estén en la literatura.

Todos los manuscritos presentados a la consideración de esta Revista serán evaluados por especialistas que asesoran al Director y Editor, quienes juzgarán el contenido de los mismos, de acuerdos a su excelencia técnica y a las instrucciones editoriales vigentes.

Los nombres de los evaluadores serán mantenidos en estricta reserva; sin embargo, sus comentarios y recomendaciones serán enviados por el Editor a los autores para su debida consideración. Una vez evaluado el trabajo, le será devuelto a los autores junto con los informes del Editor y los evaluadores. El Editor se reserva el derecho de introducir modificaciones, cuando lo juzgue conveniente.

La Revista publicará cada año un suplemento que contendrá los Índices de Materias y de Autores.

Las galeras serán enviadas a los autores, antes de la impresión final, para que se hagan las debidas correcciones.

Los artículos deben estar redactados en el idioma español, portugués o inglés. Los artículos redactados en otros idiomas deberán ser consultados con el Consejo Editorial.

Para todas las unidades utilizadas en el trabajo se adoptará el Sistema Internacional de Unidades de acuerdo con el informe publicado por la Organización Mundial de la Salud: **Las Unidades SI para las Profesionales de la Salud**, 1980.

Se espera que los artículos presentados contengan información novedosa y que estos representen una contribución sustancial al avance de esa área del conocimiento. La





Revista también podrá publicar Notas y Comunicaciones cortas como una vía rápida de divulgación de resultados recientes de marcada relevancia científica, producto de investigaciones en curso o terminadas; en estos casos, los autores deben escribir sus resultados en forma de párrafos, manteniendo al mínimo el uso de figuras, cuadros y subtítulos, sin excederse de 1500 palabras o su equivalente. Su aceptación y publicación final quedan a criterio del Director. Se recomienda reducir al máximo las notas al pie de página. Estas deben ser designadas con sobrescritos arábigos en el orden en que parecen en el texto.

PRESENTACIÓN DE LOS ARTÍCULOS

CORRESPONDENCIA

Los manuscritos y toda correspondencia deberán ser dirigidos al Director de la Revista **Scientia**, Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Universidad de Panamá, Estafeta Universitaria, República de Panamá. Tel. 223-9985 y 264-4242.

TEXTO

El texto de los trabajos (incluyendo el resumen, las referencias bibliográficas y las notas, así como los cuadros e inscripciones de las figuras) debe ser presentado en triplicado (originales y 2 copias), escritas mediante el procesador de palabras Microsoft word e impreso a máquina a doble espacio, en tinta negra y en papel bond 22x28 cm. (8 ½" x 11"). El margen izquierdo debe ser de 4.0 cm (1.2") y el derecho de 2.5 CM. (1"). Los autores deben indicar en el texto, o mediante anotaciones al margen, la localización de las figuras, los cuadros, esquemas, etc.

En la primera página del artículo debe aparecer: el título en mayúsculas centrado seguido del primer nombre, la inicial y el apellido del autor (o autores) debidamente espaciado del título también centrado. Seguidamente del (los) autor (es) debe aparecer la dirección postal completa de la Unidad Académica o institución donde fue realizado el trabajo. De ser posible, suministre el teléfono del autor principal por separado. Si la dirección actual de alguno de los autores fuera diferente de la anterior, indíquese en esta página colocando un número sobrescrito sobre el nombre de ese autor y colocando la dirección en una nota de pie. Se entenderá que el primero de los autores mencionados será a quien se le enviará la correspondencia, a menos que se indique lo contrario. Inmediatamente después de la dirección postal debe aparecer el resumen en español seguido de un mínimo de palabras o frases claves para el Índice de Materias.

Los subtítulos principales en el texto (v.g. RESUMEN, INTRODUCCIÓN, etc.) se colocarán en el margen izquierdo, pero con sólo la primera letra de cada palabra en mayúscula.





Cualquier otro subtítulo debe colocarse también al margen izquierdo, pero con sólo la primera letra de cada palabra en mayúscula.

Cada página debe ser enumerada e identificada escribiendo el apellido del autor (es) y el año: (D’Croz, 2002); (v.g. Agrazal, 2 de 10).

Las referencias que se mencionan en el texto deben ir entre paréntesis con el apellido del autor(es) y el año (D’Croz, 2002); Torres, Paredes y Averza (1997); (Díaz *et al.*, colaboradores, 2001).

ESTRUCTURACIÓN DEL MANUSCRITO

El manuscrito debe estructurarse de la siguiente manera: RESUMEN, PALABRAS O FRASES CLAVES, INTRODUCCIÓN, PARTE EXPERIMENTAL, RESULTADOS Y DISCUSIÓN, CONCLUSIÓN, SUMMARY (resumen en inglés), REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS y AGRADECIMIENTO.

La selección del título conlleva una gran responsabilidad ya que debe reflejar en pocas palabras la esencia del trabajo y debe facilitar la recuperación de la información pertinente a través de sistemas computarizados.

RESUMEN

Todo artículo debe contener un resumen de no más de 200 palabras y debe describir, en forma concisa y precisa, el objeto de la investigación, así como los principales logros y conclusiones. Debe poder leerse y entenderse en forma independiente del texto principal pero podrán citarse figuras, cuadros, etc., del texto. Se debe tener presente que el resumen será la parte más leída de su trabajo.

INTRODUCCIÓN

La introducción debe dejar claro el propósito de la investigación, los antecedentes y su relación con otros trabajos en el mismo campo, sin caer en una revisión exhaustiva de la literatura pertinente.

PARTE EXPERIMENTAL

Esta sección debe contener todos los procedimientos con el detalle suficiente de los pasos críticos que permita que el trabajo pueda ser reproducido por un personal idóneo. Los procedimientos que ya estén en la literatura sólo deben ser citados y descritos, a menos que se hayan modificado sustancialmente. Se debe incluir también el detalle de las condiciones experimentales bajo las cuales fueron obtenidos los resultados.





RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados pueden presentarse en forma de figuras, esquemas o cuadros; sin embargo, los resultados simples se pueden presentar directamente en el texto. La discusión debe ser concisa y debe orientarse hacia la interpretación de los resultados.

CONCLUSIÓN

Esta sección debe incluir solamente un resumen de las principales conclusiones del trabajo y no debe contener la misma información que ya ha sido presentada en el texto en el resumen.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Se debe utilizar el sistema de Harvard para las referencias bibliográficas, con el(los) apellido(s) del(los) autor(res) y la fecha de publicación en el texto, y el listado de las referencias debe estar ordenado alfabéticamente, considerando solamente el apellido del primer autor citado para cada referencia.

El título de las revistas debe ser abreviado de acuerdo con algunas de las siguientes referencias: **World List of Scientific Medical Periodicals** (UNESCO, 2^{da} ed.) o **Bibliographic Guide for Editors and Authors**, The American Chemical Society (disponible en el Centro de Información y Documentación Científica y tecnológica de la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado). Si la abreviatura de la revista no está listada en ninguna de estas publicaciones, se debe escribir el título completo.

La exactitud de las referencias bibliográficas citadas es de la entera responsabilidad del autor. Los trabajos no publicados pero formalmente aceptados para su publicación deben citarse «en prensa»; de otra forma, cítelos como «resultados no publicados». Las «comunicaciones personales» deben indicarse en el texto e incluir fecha de comunicación y dirección de la persona.

Las referencias bibliográficas deberán aparecer ordenadas de la siguiente forma:

-Artículos científicos:

AGUIRRE, R.L., MARTÍNEZ, I.S. y CALVO, C. 1986. Mecanismos de la acción antiespasmódica intestinal de las flores de *Matricaria chamonilla* L. *Rev. Biol. Trop.*, 27 (2), 189-201.





-Libros:

BUNGE, M. 2000. **La investigación científica: su estrategia y filosofía.** Colección "Convivium" No. 8. Barcelona: Editorial Ariel, S.A. 544 pp.

HOLMES, W.N. y DONALDSON, E.M. 1969, The body compartments and the distribution of electrolytes. En: **Fish Physiology.** Eds: W.S. Hoar y D. Randall. Vol. 1, p. 1-89. Nueva York: Academic Press.

FARMACOPEA INTERNATIONAL. 1980, 3^a. edición, Vol. I. Ginebra: **Organización Mundial de la Salud.** 56 pp.

Harris, J. y Duncan, I.S. (Eds)1982. **Constantes de disociación de ácidos orgánicos en solución acuosa.** Londres: Butterwoth: págs. 234 y 296.

-Tesis:

LEÓN, A.J. 2002. **Estructura Económica de Panamá.** Tesis de Doctorado, Universidad de Londres, Londres. 120 pp.

-Simposium-Seminario-Conferencia

MARINO, I.C. 2001. La problemática de la economía panameña. II Congreso Científico Nacional, 2-4 diciembre. Universidad de Panamá. Resumen N°. 28. (*En manuscrito*)

NAVARRO, S.G., VEGA, J. y SERRANO, I. Resultados no publicados.

AGRADECIMIENTO

Seguido de las referencias, puede incluir un párrafo breve de agradecimiento por apoyo económico, técnico o de cualquier otra índole.

ILUSTRACIONES

Las figuras (un original y dos copias) deben presentarse en su forma final para su reproducción; es decir en tinta china y en papel especial de dibujo de tamaño 22x28 cm (8 1/2" x 11"). Cada figura debe estar acompañada de un título o una inscripción explicativa. No escriba ni el título ni la inscripción sobre la figura.





Los títulos y las respectivas inscripciones de cada figura deben ser escritos a máquina a doble espacio en hojas separadas en forma de listado. Detrás de cada figura debe aparecer el nombre de los autores, el título del manuscrito, el número y una seña que indique la parte superior de la figura, todo esto escrito tenuemente con lápiz. Las ilustraciones pueden también presentarse en papel brillante de fotografía en blanco y negro. Las fotografías no deben ser menores de 10x12 cm (6"X4"). Cada ilustración (con su título e inscripción) debe ser inteligible en forma independiente del texto principal.

CUADROS

Los cuadros (un original y dos copias) deben ser utilizados solamente para presentar información en forma más efectiva que en el texto. Deben poseer un título bien descriptivo, el cual, junto con los encabezados de las columnas, deben describir su contenido en forma inteligible sin necesidad de hacer referencias al texto principal. La misma información no debe ser reproducida en los cuadros y en las figuras. Se deben numerar en forma consecutiva (usando números arábigos) en el orden en que se citan en el texto. Las notas de pie en los cuadros se deben entrar en letra minúscula y se deben citar en el cuadro como sobrescrito.





SCIENTIA
Revista de Investigación de la Universidad de Panamá

Para correspondencia, canje o subscripción dirigirse a:
Centro de Información y Documentación Científica y Tecnológica
(CIDCYT)

Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Estafeta Universitaria,
 Universidad de Panamá, Panamá, República de Panamá.
 Teléfono 264-4242; 262-6133, Ext. 309-310
 Fax (507) 264-4450
 (507) 223-7282
 Correo electrónico: upvip@ancon.up.ac.pa

Tarifa (subscripción anual):

Personal en Panamá	B/.8.00
Personal Exterior.....	US\$12.00
Institucional América Latina y el Caribe	US\$16.00
Institucional Resto del Mundo	US\$20.00

Precio de Venta: _____ B/.5.00

A las personas o instituciones interesadas en recibir permanentemente la Revista **Scientia**, sírvanse completar el formato presente y junto con el mismo remitan giro o cheque (a nombre de Fundación Universidad de Panamá - Vicerrectoría de Investigación y Postgrado). La tarifa incluye la subscripción anual correspondiente a dos números, incluyendo importe por correo.

Nombre o Institución: _____

Dirección: _____

Ciudad: _____

Zona Postal: _____

Provincia o Estado: _____

País: _____





Esta revista se imprimió en los
talleres de la Imprenta de la Universidad de Panamá
bajo la administración del Rector Magnífico
Dr. Gustavo García de Paredes
2015

