

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



AI SLAM I EN TO Y CA RAC T E R I ZAC I ON DE QUITOSAN  
PARA SU EVALUACION COMO MATERIAL  
QUELATANTE DE METALES EN SISTEMAS ACUATICOS.

T E S I S

EN OPCION AL TITULO DE  
LICENCIATURA EN QUIMICA INDUSTRIAL

P R E S E N T A :

L I Z A Y A M E R E U R E Ñ A H E R N A N D E Z

CD. UNIVERSITARIA

JULIO 1999

TL

TP248

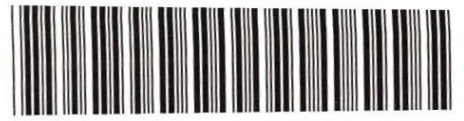
.65

.C55

U7

1999

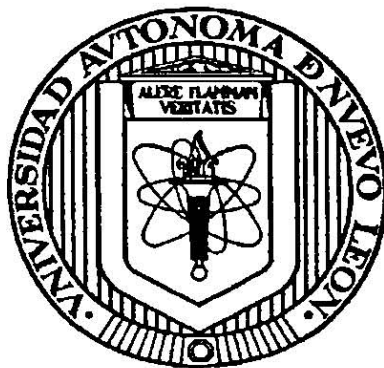
c.1



1080092564

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE QUITOSAN PARA  
SU EVALUACIÓN COMO MATERIAL QUELATANTE DE  
METALES EN SISTEMAS ACUÁTICOS.**

**TESIS  
EN OPCION AL TÍTULO DE LICENCIATURA EN  
QUÍMICA INDUSTRIAL**

**PRESENTA**

**LIZA YAMERÉ UREÑA HERNÁNDEZ**

**CD. UNIVERSITARIA**

**JULIO 1999**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

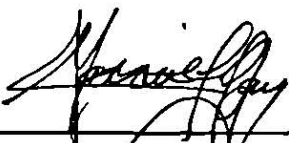
JULIO 1999


I.I.A. JOSÉ MANUEL MARTÍNEZ DELGADO  
Director de la Facultad de Ciencias Químicas


La Tesis Presentada Por La Srita. Liza Yameré Ureña  
Hernández, Titulada:

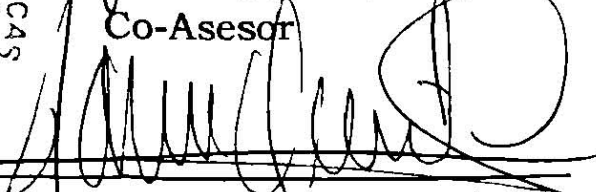
AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE QUITOSAN  
PARA SU EVALUACIÓN COMO MATERIAL QUELATANTE  
DE METALES EN SISTEMAS ACUÁTICOS

Ha sido aceptada como requisito parcial para optar al  
grado académico de Licenciado en Química Industrial.

  
Dr. Javier Macossay Torres  
Presidente y Asesor

  
Dr. Juan Manuel Alfaro Barbosa  
Co-Asesor

  
Dr. Ernesto Ureta Borrón  
Vocal

  
Dr. Ramiro Quintanilla Licea  
Jefatura de Licenciado en  
Química Industrial

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
JEFATURA DE LICENCIADO EN QUÍMICA INDUSTRIAL

## **AGRADECIMIENTOS**

Principalmente a Dios por haberme dado la oportunidad de existir y ser lo que soy para poder concluir este trabajo, y a cuatro personas que donde se encuentran siempre están conmigo cuando los necesito.

A ti Mamá por haberme impulsado a estudiar esta carrera así como el desarrollar esta tesis y por ayudarme en todas las emergencias para su desarrollo.

A ti Papá por siempre darme ánimos de seguir adelante hasta desarrollarme como una profesionista.

A usted Dr. Javier Macossay por darme la oportunidad de haber trabajado con usted, por su paciencia y confianza en mí para realizar este trabajo.

Al Dr. Juan Manuel Alfaro por toda su ayuda y confianza para realizar este trabajo para sus futuras aplicaciones.

A la Dra. Norma Nelly Treviño por su gran ayuda, al asesorarme al realizar este trabajo.

Al Dr. Ernesto Ureta por tomarse parte de su tiempo para la revisión de esta tesis.

A ustedes Nora y Lolis por haberme ayudado en todo lo que necesitaba para la medición de metales.

A Rosi, Gaby y Adriana por los grandes favores que me hicieron cuando los necesite.

A ustedes Nadia y Alma por haberse dado tiempo, para revisar este documento.

A las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas por haberme facilitado las instalaciones necesarias para la realización de esta tesis.

Al restaurante el Timón y en especial a los cocineros por haberme facilitado el caparazón de camarón.

Y a todas aquellas personas que siempre me han apoyado y han estado conmigo en todo lo que he necesitado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo através del proyecto No. 4084P-N9607 y al Sistema de Investigación Alfonso Reyes (SIREYES) a través del proyecto No. 970406035.

## DEDICATORIA

Dedico esta tesis especialmente a **mis padres**:  
Guadalupe Hernández Guzmán y Arturo Emilio Ureña Peña,  
por estar cerca de mí cuando los he necesitado, logrando  
cumplir con todo lo que me he propuesto.

A ti **mamá** por darme siempre todo tu apoyo cuando más  
lo he necesitado.

Y a ti **papá** por haberme ayudado ha encontrar mi  
vocación.

A mí **familia** por apoyarme durante mi carrera y  
especialmente a mis abuelos Manuel Hernández, Manuel  
Ureña y Pura Altagracia de Ureña por sus consejos.

# ÍNDICE

	<b>Página</b>
Resumen	i
Indice de Tablas	ii
Indice de Figuras	iii
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>Introducción</b>	
1.1 Antecedentes	2
1.2 Generalidades	2
1.3 Propiedades	4
1.3.1 Porcentaje de Desacetilación	4
1.3.2 Peso Molecular	6
1.3.3 Viscosimetría	6
1.3.4 Solubilidad	8
1.3.5 Habilidad Coagulante	8
1.4 Aplicaciones	8
1.4.1 Tratamiento de Aguas	10
1.4.2 Industria del Papel	11
1.4.3 Médicas	11
1.4.4 Cosméticos	12
1.4.5 Biotecnología	13
1.4.6 Agricultura	14
1.4.7 Alimentos	14
1.4.8 Membranas de Quitosán	15
1.5 Quelación de Metales	15
1.5.1 Digestión de Muestras de Agua	16
1.5.2 Espectrofotometría de Absorción Atómica	17
1.6 Objetivos	18
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>Parte Experimental</b>	
2.1 Material	21
2.2 Equipo	21
2.3 Planeación Experimental	21
2.4 Aislamiento de Quitosán	23
2.5 Diseño Experimental	23



2.6 Caracterización	25
2.6.1 Solubilidad	26
2.6.2 Espectroscopía de Infrarrojo	26
2.6.3 Viscosimetría	27
2.7 Evaluación como Agente Quelatante	29
2.7.1 Preparación de Estándares	29
2.7.2 Tratamiento de Estándares con Quitosán	30
2.7.3 Determinación de Plomo y Mercurio por Espectroscopía de Absorción Atómica	30
2.7.4 Determinación de Plomo en una Muestra de Agua Industrial	30

### **CAPÍTULO III**

#### **Resultados y Discusiones**

3.1 Aislamiento de Quitosan	33
3.2 Diseño Experimental	35
3.2.1 Evaluación de los Efectos de las Variables Sobre las Respuestas	38
3.3 Caracterización	40
3.3.1 Espectroscopía de Infrarrojo	40
3.3.2 Viscosimetría	42
3.3.3 Solubilidad	44
3.4 Evaluación como Material Quelatante	45
3.4.1 Evaluación como Material Quelatante en Soluciones de Plomo	45
3.4.2 Evaluación como Material Quelatante en Soluciones de Mercurio	47
3.4.3 Evaluación como Material Quelatante de Plomo en una Muestra de Agua Industrial	49

### **CAPÍTULO IV**

<b>Conclusiones</b>	51
---------------------	----

<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	53
---------------------	----

## **Apéndices**

- I. Espectros de Infrarrojo
- II. Cálculos de Pesos Moleculares
- III. Toxicidad de Reactivos

## RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo desarrollar un método reproducible y confiable para el aislamiento de quitosán para su posterior evaluación como agente quelatante de metales pesados en cuerpos de agua contaminados. El quitosán es un biopolímero derivado de la quitina, la cual es el polímero de (N-acetilglucosamina). Los grupos amino actúan como donadores de pares de electrones en la formación de quelatos con iones metálicos. Para el aislamiento del biopolímero se utilizó como materia prima caparazones de camarón y se realizó en tres etapas, que consisten en una desproteínización, desmineralización y desacetilación de los caparazones de camarón. Se conocieron los parámetros que afectaron el proceso del aislamiento de quitosán utilizando un diseño factorial fraccionario en el cual se tomaron como parámetros principales su porcentaje de desacetilación, su peso molecular y su solubilidad en soluciones ácidas. La caracterización del quitosán se llevó a cabo por espectrometría de infrarrojo y el peso molecular por la técnica de viscosimetría con un viscosímetro Ubbelohde. Las condiciones encontradas del aislamiento de quitosán, dieron un porcentaje de desacetilación de 83.7% y un peso molecular de 409,810g/mol. La capacidad quelatante del biopolímero se evaluó por medio de espectrofotometría de absorción atómica, se realizaron experimentos con estándares de plomo y mercurio variando el pH (3-11) y el tiempo de contacto (1.5 y 3.0 horas). El porcentaje de retención de plomo fue de 95.65% a pH 10 y a un tiempo de 3h; para mercurio fue de 76.61% a un pH 3 y a un tiempo de 3h. En una muestra de agua industrial, con alto contenido en plomo, se obtuvo un porcentaje de retención de 88.43%

## INDICE DE TABLAS

Tabla		Página
1	Propiedades del Quitosan y Métodos de Determinación	5
2	Aplicaciones del Quitosan	9
3	Diseño Factorial Fraccionario a seguir para el Aislamiento de Quitosan	24
4	Valores Máximo y Mínimo de las Variables del Diseño Factorial Fraccionario	25
5	Condiciones para Digestión	31
6	Experimentos Realizados con la Variación de las Condiciones de Trabajo	34
7	Experimento 7 Reproducido	35
8	Diseño Factorial Fraccionario a Seguir para el Aislamiento de Quitosan	36
9	Diseño Factorial Fraccionario con los Valores de las Variables	36
10	Condiciones de los Experimentos del Aislamiento de Quitosan Aplicando el Diseño Factorial Fraccionario	37
11	Resultados del Diseño Factorial Fraccionario	37
12	Condiciones y Resultados de Pesos Moleculares en Orden Ascendente	44
13	Solubilidad en Ácidos Orgánicos e Inorgánicos	45
14	Concentración y Porcentaje de Retención de los Estándares de Plomo	46
15	Concentración y Porcentaje de Retención de los Estándares de Mercurio	48
16	Porcentajes de Retención de Plomo en Muestra de Agua Industrial	49

## INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estructura de la Quitina	3
2	Estructura del Quitosan	4
3	Desarrollo Experimental	22
4	Viscosímetro Ubbelohde	28
5	Espectro Infrarrojo del Experimento 6	41
6	Cálculo del Porcentaje de Desacetilación del Experimento 6	42
7	Cálculo de Peso Molecular	43
8	Porcentajes de Retención de Plomo vs pH	46
9	Porcentajes de Retención de Mercurio vs pH	48

# ***CAPÍTULO I***

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

### 1.1 Antecedentes

El quitosán, polímero derivado de la quitina, fue tradicionalmente usado en el Oriente para el tratamiento de abrasiones, mientras que en América para heridas causadas por machete. Un reciente análisis del barniz en uno de los violines de Antonio Stradivarius demuestra la presencia de material quitínico. En 1859, Rouget<sup>(1)</sup> reportó por primera vez el aislamiento de quitosán, cuando hirvió quitina en una solución de hidróxido de sodio concentrado. Sin embargo, reportes adicionales en esta área fueron realizados hasta 1934, cuando dos patentes fueron otorgadas a Rigby<sup>(2,3)</sup>; la primera para la producción de quitosán a partir de quitina y la otra por fibras de quitosán. En el mismo año, se reportó el primer patrón de Rayos-X de una orientación parecida a las de las fibras de quitosán y fue publicada por Clark y Smith<sup>(4)</sup>. Sin embargo, la investigación y explotación de la quitina y el quitosán no fue desarrollada sino hasta la década de los 70's por los trabajos realizados principalmente por Muzzarelli. Estos materiales poliméricos, así como sus derivados, han presentado en numerosos estudios el potencial de ser utilizados en diversas áreas, como lo son medicina, biotecnología, cosmética, agrícola y ambiental entre otras<sup>(5)</sup>.

### 1.2 Generalidades

La quitina, poli- $\beta$ -(1-4)-N-acetil-D-glucosamina, cuya estructura se muestra en la Figura 1, es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza con grupos amino. Es atóxico y biodegradable, sin embargo, no ha sido ampliamente explotado debido a las propiedades intrínsecas de este material, tales como baja reactividad, baja solubilidad, y difíciles condiciones de procesamiento. La quitina presenta dificultad para reaccionar y solubilizar debido a los grupos acetoamido que contiene, los cuales forman puentes de hidrógeno con los hidroxilos adyacentes<sup>(6)</sup>. La quitina es un homopolímero análogo a la celulosa, siendo este último

ampliamente utilizado, tanto como material regenerado para obtener celofán y rayón, como también para obtener productos, tales como el triacetato de celulosa.

La quitina usualmente se encuentra en exoesqueletos de crustáceos, insectos, hongos y levaduras. Por ejemplo, los mariscos como el cangrejo, camarón y langosta contienen de un 14 a 35% de quitina en base seca, mientras que los hongos contienen porcentajes mayores al 35% de quitina. Se estima que se producen más de cien billones de toneladas de quitina anualmente por estos animales y microorganismos en el mundo<sup>(7)</sup>.

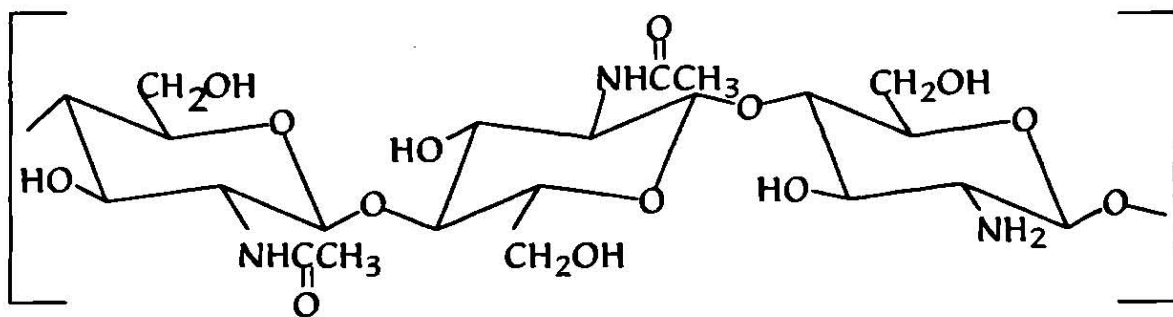


Figura 1. Estructura de la Quitina

El quitosán, poli- $\beta$ -(1-4)-D-glucosamina es un polisacárido obtenido por la desacetilación de la quitina, en la Figura 2 se muestra su estructura; contiene un porcentaje de desacetilación mayor al 60% y es más susceptible a cambios químicos que la quitina, ya que ésta tiene en su estructura exclusivamente grupos acetoamido, mientras que el quitosán es un copolímero que contiene grupos acetoamido y grupos amino por lo que hay menos puentes de hidrógeno<sup>(6)</sup>, como consecuencia, el quitosán es más soluble y más reactivo que la quitina<sup>(7)</sup>. La diferencia básica entre la quitina y el quitosán es el porcentaje de grupos acetoamido en el carbón 2, originando esto la solubilidad de quitosán en ácidos orgánicos diluidos<sup>(7,8)</sup>.



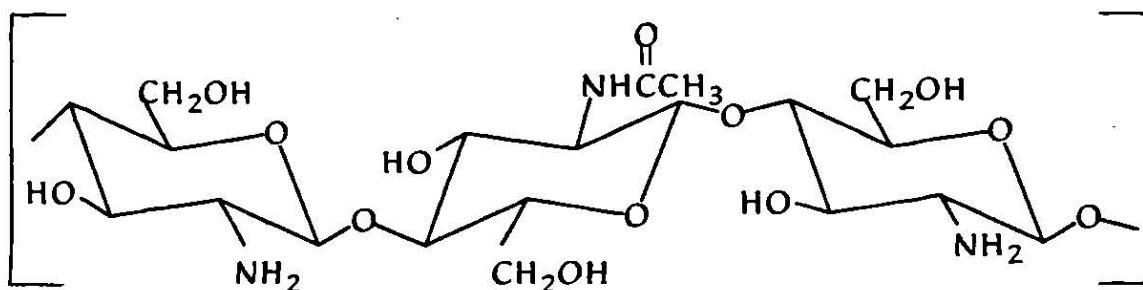


Figura 2. Estructura del Quitosan

### 1.3 Propiedades

En el ámbito comercial, el quitosan es producido principalmente por la desacetilación de quitina obtenida de crustáceos, los cuales son fuentes naturales renovables, biodegradables y biocompatibles con tejidos animales y vegetales, con muy baja toxicidad y no producen alergias. La quitina y el quitosan pueden ser utilizados en forma de geles, fibras o películas<sup>(9)</sup>.

Las características y propiedades de la quitina, tales como pureza, viscosidad, porcentaje de desacetilación, alto peso molecular, biodegradabilidad, atoxicidad<sup>(10)</sup> y estructura polimorfa, pueden variar dependiendo de la materia prima utilizada, así como de la estación del año en que la materia prima es obtenida. Los parámetros más importantes del quitosan se señalan en la Tabla 1, estos son: el porcentaje de desacetilación y el peso molecular, parámetros que afectan la viscosidad, solubilidad y la habilidad del quitosan como agente coagulante<sup>(5)</sup>.

#### 1.3.1 Porcentaje de Desacetilación

El porcentaje de desacetilación es uno de los parámetros más importantes para caracterizar una muestra de quitosan. Esta característica está directamente relacionada al hidrógeno del grupo acetoamido, afectando éste a la estructura, solubilidad y reactividad del biopolímero. El porcentaje de desacetilación puede ser determinado por espectroscopía de infrarrojo, espectroscopía de ultravioleta, titulación ó por cromatografía de gas<sup>(5)</sup>.

Tabla 1. Propiedades del Quitosan y Métodos de Determinación<sup>(5)</sup>

<b>PROPIEDAD</b>	
<b>Porcentaje de desacetilación</b>	Determinado por: Espectrometría de IR Espectrometría de UV Cromatografía de gases
<b>Peso molecular</b>	Determinado por: Cromatografía Viscosimetría Dispersión de la luz
<b>Viscosidad</b>	Afectado por: Tiempo de desacetilación Peso molecular Concentración
<b>Solubilidad</b>	Usualmente se disuelve cuando el pH < 6, pero también se ve afectado por: Mezcla de solventes Porcentaje de desacetilación > 60% Solvatación Modificación química
<b>Habilidad coagulante</b>	Interacciones: Iones metálicos Polímeros aniónicos Aminoácidos Proteínas DNA Sólidos Pinturas

### Espectroscopía de Infrarrojo

En 1985 Roberts<sup>(11)</sup> evaluó el uso de espectroscopía de infrarrojo en muestras de quitosan en un rango de 14 a 72% de N-acetilo, comparando esta técnica con la de la titulación de sales de hidrobromuro y con la determinación de iminas de quitosan formadas por salicilaldehído-quitosan por medio de espectroscopía de ultravioleta<sup>(6)</sup>.

Este método nos indica que para calcular el porcentaje de desacetilación se determina la absorción de la banda de amidas alrededor de  $1650\text{ cm}^{-1}$  y se compara con la absorción de la banda de hidroxilos alrededor de  $3450\text{ cm}^{-1}$ , el cual es usado como referencia interna. Una vez obtenidos estos datos,

el grupo acetilo residual puede ser calculado por el uso de la siguiente fórmula<sup>(6)</sup>:

$$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33) \quad (1)$$

$$\% \text{ Desacetilación} = 100 - \% \text{ N-acetilo} \quad (2)$$

### 1.3.2 Peso Molecular

El peso molecular es uno de los parámetros más importantes en la química de polímeros. Sin el conocimiento de este parámetro no hay real comprensión entre la estructura de un polímero y sus propiedades.

El uso de las técnicas químicas para la determinación del peso molecular en macromoléculas está limitado debido a que estas técnicas son muy insensibles para polímeros de alto peso molecular (>25,000)<sup>(6)</sup>. En general se pueden distinguir dos métodos para determinar el peso molecular de polímeros:

#### Métodos Absolutos:

Titulación de grupos funcionales, dispersión de la luz ultracentrifugación y osmometría<sup>(6)</sup>.

#### Métodos Secundarios:

Estos son viscosidad de soluciones y cromatografía de permeación en gel, los cuales tienen que ser calibrados por métodos absolutos<sup>(6)</sup>.

La viscosimetría es el método más simple y rápido para la determinación del peso molecular. La viscosidad del quitosán en solución se ve afectada por muchos factores tales como el porcentaje de desacetilación, peso molecular, concentración, fuerza iónica, pH y temperatura<sup>(6)</sup>.

### 1.3.3 Viscosimetría

La técnica de viscosimetría (método secundario) es ampliamente utilizada por su sencillez, corto tiempo requerido para analizar las muestras y el bajo costo del equipo utilizado. Se encuentra basada en la ley de Newton de flujo viscoso, en donde la fuerza de fricción resiste el flujo de dos capas de líquido adyacente<sup>(6)</sup>. Este método está basado en la ecuación de Mark- Houwink<sup>(12)</sup>:

$$\eta = k M^{\alpha} \quad (3)$$

donde:

$\eta$  = viscosidad intrínseca

M = peso molecular

k y  $\alpha$  son constantes determinadas experimentalmente.

En general, para obtener la viscosidad promedio del peso molecular del quitosan, es necesario contar con un buen solvente y también con los parámetros k y  $\alpha$  de la ecuación de Mark- Houwink.

Se han propuesto algunos solventes para la determinación de estos parámetros (k y  $\alpha$ ), pero factores como la agregación y porcentaje de desacetilación no son tomados en cuenta. Sin embargo el solvente más utilizado es el buffer ácido acético/acetato de sodio, debido a que este evita la agregación<sup>(6)</sup>.

Wang<sup>(12)</sup> y sus colaboradores determinaron el valor de k y  $\alpha$  en la ecuación de Mark-Houwink para muestras de quitosan con un porcentaje de desacetilación de 69 - 100%. Ellos observaron que  $\alpha$  disminuye, indicando rigidez de la cadena, cuando el porcentaje de desacetilación se incrementa, esto fue atribuido a que hay menos hidrógenos presentes en el biopolímero. Al contrario, cuando k se incrementa, el porcentaje de desacetilación se incrementa; este efecto fue explicado en términos del efecto polielectrolito, donde la repulsión electrostática de los grupos iónicos a lo largo de la cadena de quitosan, promueve la expansión del quitosan cuando el porcentaje de desacetilación se incrementa, provocando que la viscosidad intrínseca aumente <sup>(6)</sup>. De acuerdo a este trabajo, se utilizan las siguientes ecuaciones para obtener k y  $\alpha$ :

$$k = (1.64 \times 10^{-30}) (DD)^{14.0} \text{ (ml/g)} \quad (4)$$

$$\alpha = (-1.02 \times 10^{-2}) (DD) + 1.82 \quad (5)$$

donde:

DD es el porcentaje de desacetilación.

### 1.3.4 Solubilidad

El quitosán es insoluble en agua, soluciones alcalinas, alcoholes y solventes orgánicos, tales como DMSO, DMF, NMP<sup>(13)</sup>, pero soluble en soluciones ácidas de 0.25 % a 10% a un pH menor de 6 y ácidos de pKa's entre 3 y 7. Entre estos ácidos se incluyen al ácido fórmico, acético, propiónico, oxálico, malónico, succínico, adípico, láctico, pirúvico, málico, tartárico y cítrico. El quitosán también es soluble en ácido nítrico diluido, ácido clorhídrico, parcialmente soluble en 0.5% de ácido fosfórico, e insoluble en ácido sulfúrico a temperatura ambiente<sup>(8)</sup>.

### 1.3.5 Habilidad Coagulante

El quitosán es un buen agente coagulante ó floculante debido a la alta densidad de grupos amino, que pueden interactuar con sustancias cargadas negativamente, como proteínas, sólidos, pinturas y polímeros. Sin embargo, el quitosán se comporta muy diferente respecto a la transición de los iones metálicos; el nitrógeno del grupo amino de la molécula de quitosán actúa como donador de electrones y es responsable de la selectividad quelatante de los iones metálicos<sup>(5)</sup>.

## 1.4 Aplicaciones

La producción industrial y usos de quitosán están creciendo constantemente desde 1970. En Japón, la producción de quitosán se incrementó desde 1978 hasta 1983 en un porcentaje de 37% cada año. La cantidad anual alcanzada en 1983 fue de 311 toneladas y de 1270 toneladas en 1986. En 1991 se utilizaron 1.4 millones de toneladas métricas de caparazón de camarón, langosta y cangrejo para la producción de quitosán<sup>(14)</sup>. En la tabla 2 se muestra la tendencia actual hacia la producción de productos de alto valor, como cosméticos, medicamentos, aditivos alimenticios, membranas semipermeables y farmacéuticos. La diferencia entre el valor de los productos y el bajo costo del polímero es uno de los principales esfuerzos para realizar estudios en nuevas aplicaciones de quitosán<sup>(5)</sup>.

Tabla 2. Aplicaciones del Quitosan<sup>(5)</sup>

<b>APLICACION</b>	<b>EJEMPLO</b>
<b>Tratamiento de aguas residuales</b>	Eliminación de iones metálicos Floculante/coagulante Proteínas Aminoácidos Filtración Pinturas
<b>Industria del papel</b>	Tratamiento superficial Papel fotográfico Papel carbón
<b>Médicas</b>	Vendas, esponjas Vaso de sangre artificial Control del colesterol en la sangre Inhibición de tumores Membranas Inhibición de la placa dental Piel artificial Lentes de contacto Control en medicamentos Tratamiento en enfermedades de huesos
<b>Cosméticos</b>	Esmaltes de uñas Accesorios personales Loción de baño Cremas para la cara, cuerpo y piel Pasta dental Espuma
<b>Biotecnología</b>	Inmovilización de enzimas Separación de proteínas Cromatografía Recuperación de células Inmovilización de células
<b>Agricultura</b>	Fertilizante Control agroquímico Capa de semillas Capa de hojas
<b>Alimentos</b>	Eliminación colorantes, sólidos, ácidos Conservadores Estabilización de color Aditivo como alimento para animales
<b>Membranas</b>	Osmosis inversa Control de permeabilidad Separación de solventes

### 1.4.1 Tratamiento de Aguas

Una de las primeras aplicaciones del quitosan fue la de quelación de metales, como cobre, plomo, mercurio y uranio de aguas residuales, remontándose a la década de los setenta. En 1973, Muzzarelli documentó el efecto de quitina, quitosan y otros polímeros quelatantes indicando que el quitosan es un fuerte agente quelatante y el mejor con habilidad de coleccionar metales como cobre, plomo, mercurio y uranio<sup>(5)</sup>.

Magri comparó la habilidad quelatante de quitosan con otros materiales, entre ellos poli- $\rho$ -aminoestirenos, y confirmó que el quitosan tiene una alta habilidad de quelación de sustancias con presencia de metales. Un estudio realizado por Hirano sobre recubrimientos de uranio encontrado en aguas, demostró que 40-74% de uranio fue recuperado de ríos y lagos y un 3% de agua de mar<sup>(6)</sup>.

Un estudio realizado por J.C Alvarado-Monzon, J.A López Jiménez, L. López Martínez y P.L. López Alba, sobre la colección de arsénico (V) con dos derivados de quitosan ditiocarbamato y glutaraliden, mostraron que el pH afecta la retención de arsénico en los dos derivados, por lo que el uso de uno o ambos derivados en procesos de descontaminación de aguas es factible<sup>(15)</sup>. Wu investigó la efectividad de coagulación de sólidos y proteínas de aguas contaminadas, la cual fue inversamente proporcional al peso molecular del polímero<sup>(3)</sup>.

También se han evaluado diseños factoriales con quitosan para realizar separaciones analíticas de aguas contaminadas con los residuos de los recubrimientos de cobalto, en estos diseños se evaluó la influencia del tiempo de contacto y el pH de la separación<sup>(16)</sup>.

En estudios realizados en el Instituto Central de Tecnología de la India se aisló quitosan para utilizarlo en estudios de absorción de soluciones de fierro, cobalto, níquel, mercurio y cobre; obteniéndose la máxima absorción en mercurio y la mínima en cobalto. Experimentos realizados con mercurio, cobalto y níquel a distintos pH (3, 4 y 7) mostraron que la máxima absorción para mercurio fue de 38%, para cobalto fue de 0.47% y para níquel de 5.8% por

una hora, siendo el pH un factor con pequeña influencia en el porcentaje de absorción<sup>(17)</sup>.

### **1.4.2 Industria del Papel**

El quitosan ha atraído la atención de la industria del papel a lo largo del tiempo. En 1936 Rigby reportó que una capa del 3% de una solución de quitosan de viscosidad media puede ser aplicada a la superficie de las hojas de papel, dando la propiedad de resistencia al agua<sup>(18)</sup>.

Algunas aplicaciones de quitosan en la pulpa y la industria del papel fueron revisadas por Muzzarelli, éstas incluyen el tratamiento de la superficie del papel con la solución de 1% de quitosan para el aumento de la fuerza de quebrado y el endurecimiento del pliegue sin disminuir el brillo del papel. Con el descubrimiento de la nueva tecnología, tal como el color de diferentes tipos de fotocopiado y alta calidad de fibras de papel se requieren mejores propiedades en el papel. En la industria de las fibras por ejemplo, se llevaron a cabo tratamientos con soluciones de 0.5% de quitosan mejorando con firmeza el color de las fibras. En el proceso del papel, Azaiwa y Noda colocaron una capa de quitosan en el papel fotográfico para incrementar sus propiedades antiestáticas, ya que las descargas electrostáticas pueden causar una mala calidad del papel. En estudios adicionales se reportó que la superficie del papel puede incrementar su resistencia a la carga electrostática diez mil veces después del tratamiento con quitosan<sup>(5)</sup>.

### **1.4.3 Médicas**

El quitosan, como polímero, es un buen material en la preparación de biomateriales. El quitosan tiene aplicaciones biomédicas, las cuales dependen mucho de sus propiedades biológicas, tales como que es un polímero natural, biodegradable y biocompatible con muchos sistemas vivos. Esta biocompatibilidad comenzó explotando métodos de purificación de quitosan de muy alta calidad. De este modo la eliminación tóxica de materiales contaminantes tales como proteínas, metales pesados y pirógenos, aseguran la biocompatibilidad y la seguridad<sup>(19)</sup>.



El quitosán y algunos de sus derivados, como el quitosán sulfatado, son anticoagulantes de la sangre (hemostáticos). Debido a estas propiedades, estos materiales pueden ser usados en vendajes y esponjas como un tratamiento quirúrgico y en protección de heridas<sup>(5)</sup>.

La acción bacteriostática del quitosán fue demostrada por Allan, donde fueron utilizados organismos seleccionados de bacterias comunes en la piel. Los investigadores establecieron que *S.epidermis* fue completamente inhibida por una solución de quitosán al 0.1%, pero *S.aeurus* y *P.aeruginosa* necesitaron 1% de concentración. El quitosán también fue empleado para obtener piel artificial, siendo probado por inserción dentro de una cortada en la espalda de ratas. <sup>(5)</sup> El quitosán también presenta una gran afinidad por mucopolisacáridos y proteínas de la piel por lo que se adhiere a ellos; ha sido utilizado para elaborar membranas con diferentes propósitos médicos y odontológicos como lo son riñones artificiales<sup>(9)</sup>.

También se ha encontrado que el quitosán es efectivo para disminuir el colesterol. Varias formulaciones hipolipémicas contienen quitosán, incluyendo partículas, polvos y soluciones preparadas para administración oral. En las pruebas orales a ratones, estas medicinas efectivamente disminuyen el colesterol en la sangre arriba de un nivel de 66%. Sirica y Woodman mostraron que el quitosán puede agregarse selectivamente en células tumorales de leucemia, produciendo una agregación y a la vez inhibiendo el crecimiento de las células<sup>(5)</sup>.

Shibasaki reportó que la presencia de quitosán de un bajo peso molecular en agua potable puede inhibir la formación de la placa bacteriana a causa de la inhibición de crecimiento de microbios. En 1984, Allan indicó que puede ser posible emplear quitosán en la creación de lentes de contacto blandos para ser ópticamente limpios, seguros y permeables a gases<sup>(5)</sup>.

#### **1.4.4 Cosméticos**

Una de las propiedades más importantes del quitosán para ser empleado en cosméticos es su habilidad de

interactuar con carga negativa en la superficie de la piel y el cabello<sup>(13)</sup>. Algunas revisiones de Muzzarelli indican que el uso de quitosan puede remover almidón contenido en shampoos, proporcionando brillo y fuerza al cabello. Yabe preparó una serie de cosméticos coloreados para maquillaje con una mezcla spray seco de pigmentos y gránulos de quitosan. Otros reportes en el uso de quitosan para cosméticos involucran esmaltes, artículos para cabello y piel, y acondicionadores para el cabello. Algunos artículos de tocador también pueden contener quitosan son las lociones de baño, las cuales contienen lactato de quitosan y succinato de quitosan y alquil fosfatos de quitosan, preparados por Banda; él afirma que esta loción de baño da como resultado un incremento de suavidad en la piel<sup>(3)</sup>.

#### 1.4.5 Biotecnología

Algunos reportes han sido publicados en el uso de quitosan como ligando, agente floculante y como polímero de soporte para separación de recubrimientos de proteínas y células. Senstand y Mattiasson separaron dos proteínas tripsina y germen de trigo aglutinado a partir de soluciones crudas utilizando su afinidad con el quitosan. Los grupos amino e hidroxilo en el polímero proveen lugares para enlaces y modificaciones físicas y químicas. Por esta razón el quitosan ha sido ampliamente usado como un transportador para inmovilización de enzimas. Algunas enzimas inmovilizadas con gel de quitosan son  $\alpha$ -galactosidasa,  $\beta$ -galactosidasa y  $\alpha$ -amilasa. La inmovilización usualmente implica un paso de unión cruzada usando glutaraldehído. Otra interesante aplicación fue por Katayama, que preparó un electrodo de glucosa con una membrana de quitosan inmovilizada por enzimas, sobre una red de nylon que fue cubierta con una membrana permeable de peróxido de hidrógeno<sup>(5)</sup>.

Una aplicación del quitosan por afinidad cromatográfica fue reportada por Home y sus colegas, ellos inmovilizaron 1-tio- $\beta$ -glucopiranososa en gel de quitosan, la cual tiene una afinidad especial por  $\beta$ -D-glucosidasa, la columna fue preparada con *A. Fecalis*  $\beta$ -D-glucosidasa en un buffer de fosfato de sodio a un pH de 6.8. La enzima encontrada fue

recuperada por una solución de cloruro de sodio y fosfato de sodio a un pH de 6.8<sup>(5,10)</sup>.

#### **1.4.6 Agricultura**

El quitosan tiene muchas aplicaciones en agricultura debido a que el polímero es esencialmente natural y biodegradable, por lo tanto no puede causar problemas de contaminación. Una aplicación actualmente empleada es en la capa de las semillas. Hadwiger y sus colegas establecieron que un tratamiento de quitosan en las capas de semillas tiene muchos efectos benéficos, tal como la inhibición de hongos en semillas y plantas. El quitosan puede ser agregado a fertilizantes; estudios recientes de la preparación de un fertilizante líquido que contiene quitosan y trazas de elementos tales como fierro, manganeso, zinc, cobre y molibdeno fueron empleados por métodos hidrofónicos. El uso excesivo de agroquímicos, tal como fertilizantes, herbicidas y pesticidas han generado problemas de contaminación del medio ambiente. El quitosan se utiliza como control para reducir la demanda de agroquímicos, ya que un uso excesivo puede provocar problemas de contaminación del medio ambiente<sup>(5)</sup>.

En un estudio realizado sobre el crecimiento acelerado de plantas, donde fueron tratadas semillas de rábano y plantas de papa con soluciones de quitosan a distintas concentraciones, se obtuvo por resultado que el quitosan tuvo un efecto benéfico<sup>(7)</sup>.

#### **1.4.7 Alimentos**

Debido al alto poder de quelatamiento y la habilidad de coagulación del quitosan, el polímero ha sido utilizado en la industria de alimentos; por ejemplo, en el caso de bebidas, el quitosan fue usado para quitar colorantes de jugos de naranja y eliminar sólidos de sustancias ácidas de jugos de manzana y zanahoria. El quitosan también ha sido empleado en el tratamiento de otros alimentos tal como sardinas, leche y col china. Otras aplicaciones del quitosan son la estabilización del color de proteínas de peces<sup>(5)</sup>.

### **1.4.8 Membranas de quitosan**

Las membranas de quitosan pueden ser preparadas de varias maneras: por evaporación de solventes y entrecruzando con reactivos bifuncionales y por quelatantes con polímeros y proteínas<sup>(5)</sup>. Las membranas más utilizadas son fabricadas fácilmente con un molde, y son obtenidas a partir de una solución de quitosan dejando evaporar el solvente, obteniendo películas flexibles<sup>(19)</sup>.

Las membranas de quitosan formadas por una solución viscosa han atraído la atención de la industria química, ya que éstas fueron utilizadas para la separación de mezclas agua-alcohol<sup>(7)</sup>. En 1977, Muzzarelli reportó el procedimiento para la preparación de membranas para ósmosis inversa; éstas fueron preparadas por disolución de quitosan en una solución ácida mezclada con solventes orgánicos tales como metanol, etanol y acetona en una relación de 6:4 de agua como solvente<sup>(5)</sup>.

### **1.5 Quelación de Metales**

En años recientes, instituciones de salud pública y ambiental han revisado los métodos empleados para el tratamiento de residuos tóxicos, en especial para el tratamiento de aguas industriales contaminadas con metales tóxicos como por ejemplo plomo, mercurio, arsénico y cadmio. Estos metales representan un peligro potencial ya que pueden ser acumulados biológicamente en agua, sedimentos y ambiente. Otros metales como cobre, níquel, cromo y zinc, que son ampliamente empleados en la industria metal-mecánica, también deben de ser motivo de estudio, ya que su presencia en aguas residuales puede contaminar los lodos, al grado de volverse estos inapropiados para los suelos agrícolas, reduciendo adicionalmente la eficiencia del proceso secundario de tratamiento de aguas residuales. De esta forma, descargas de aguas residuales deficientemente tratadas podrían alcanzar los sistemas acuáticos. <sup>(18)</sup>.

Un estudio por cromatografía en columna sobre la efectividad de la quitina y el quitosan para quelar metales, demostró que la habilidad de absorción de quitosan es más alta que la de la quitina<sup>(20)</sup>. Por lo que una alternativa para el

tratamiento de aguas residuales es la quelación de metales con quitosan<sup>(18)</sup>. Sin embargo, para poder usar apropiadamente el quitosan en el tratamiento de aguas residuales, es necesario conocer su capacidad de quelación para cada metal. Para la determinación de este parámetro es necesario llevar a cabo una serie de experimentos batch con soluciones estándar de cada metal y el quitosan. El porcentaje de quelación se puede obtener determinando el contenido del metal en las aguas madres. Una técnica analítica normalmente usada para lograr este objetivo es la Espectrofotometría de Absorción Atómica (AAS).

### **1.5.1 Digestión de Muestras de Agua**

Para la determinación de metales en aguas residuales por espectrofotometría de absorción atómica es necesario digerir la muestra. Mediante esta operación se elimina la materia orgánica que puede interferir en la determinación.

Una técnica de digestión usada actualmente es por medio de un horno de microondas que tiene amplias ventajas sobre las técnicas tradicionales de digestión. En especial, mediante el uso de un horno de microondas se reduce la cantidad de reactivos y se obtiene una mejor reproducibilidad, ya que se evitan pérdidas de sustancias volátiles, el calentamiento es más eficiente, y se reduce el tiempo de digestión.

La fuente de energía de microondas es un magnetrón, y el calentamiento de la muestra es consecuencia del movimiento de las moléculas de solventes polares cuando son expuestas al campo magnético. La digestión se realiza en vasos de teflón, siendo este material transparente a la radiación de microondas. Los solventes utilizados son generalmente ácidos fuertes como ácido nítrico y ácido clorhídrico. Los parámetros a controlar, son la presión y la temperatura, para ello, los equipos cuentan normalmente con sensores de presión y temperatura, así como un sistema de seguridad, que en el caso de una fuga de vapores, el programa aborta automáticamente<sup>(21)</sup>.

### 1.5.2 Espectrofotometría de Absorción Atómica

La espectrofotometría de absorción atómica es una técnica analítica que implica la absorción de luz por átomos libres. Esta técnica está sujeta a pocas interferencias y las que ocurren están bien estudiadas y documentadas<sup>(21)</sup>.

La espectroscopía de absorción atómica es una técnica cuantitativa donde la determinación se lleva a cabo por comparación de las concentraciones de una serie de estándares con la muestra utilizando la ley de Beer-Lambert. Esta ley relaciona la potencia de la luz absorbida con la concentración<sup>(21)</sup>.

$$A = \text{Log} \frac{P_0}{P_t} \quad (6)$$

Donde:

A= absorbancia

P<sub>0</sub>= Potencia del haz incidente

P<sub>t</sub>= Potencia transmitida

Cuando se hace incidir un rayo de luz monocromática en un ángulo recto sobre una celda que contiene al analito la absorción de la radiación es directamente proporcional a la concentración del analito y el espesor de la celda

$$A \propto bC$$

$$A = abc = \epsilon bC$$

Donde:

A= absorbancia

a= constante

$\epsilon$ = absortividad molar (constante)

b= espesor de la celda (cm)

C= concentración molar

Cuando el espesor de la celda es de 1 cm y se conoce el peso molecular del analito, los parámetros a y b pueden considerarse constantes. Por lo tanto, la ecuación de Beer nos indica una relación lineal entre absorbancia y la concentración<sup>(21)</sup>.

Los principales componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica son: fuente de radiación, sistema de atomización, monocromador, detector y sistema de lectura.

Las fuentes de radiación más ampliamente usadas son: lámparas de cátodo hueco y lámparas de descarga sin electrodos<sup>(21)</sup>.

Una lámpara de cátodo hueco se compone de un ánodo y un cátodo, el ánodo es generalmente un alambre de wolframio y el cátodo un cilindro hueco hecho del elemento que se analiza o de una aleación que lo contenga.

La función del monocromador es aislar una única línea de resonancia del resto de las líneas emitidas por la lámpara de cátodo hueco. La resolución de un monocromador se debe a la capacidad de discriminar entre dos diferentes longitudes de onda. Los monocromadores en absorción atómica utilizan rejillas de difracción como elemento de dispersión. La función del detector es convertir la radiación en una señal mensurable (eléctrica), la señal eléctrica es amplificada y usada para dar una medida cuantitativa de absorción. El detector usado universalmente en instrumentos de absorción atómica es el tubo fotomultiplicador; ningún otro dispositivo ofrece la misma sensibilidad a través de todo el rango de longitudes de onda requeridas para un análisis de absorción atómica. El fotomultiplicador produce una señal eléctrica proporcional a la intensidad de la luz que recibe.

El sistema de atomización más ampliamente usado es el de una flama de acetileno-aire u oxido nitroso-aire. Para los metales que forman hidruros como el arsénico se puede mejorar el límite de detección utilizando un generador de hidruros; de la misma forma, el mercurio puede ser generado en forma de vapor de mercurio, lo cual también produce un mejor límite de detección<sup>(21)</sup>.

## 1.6 Objetivos

Los objetivos de este estudio son: (1) realizar el aislamiento del quitosan a partir de una fuente natural como lo es el caparazón de camarón; (2) conocer los parámetros que afectan el proceso de obtención del quitosan por el método fraccional factorial para obtener material soluble en soluciones de ácido acético 1% manteniendo un alto porcentaje de desacetilación y un alto peso molecular; y (3) aplicar los resultados obtenidos por el método fraccional

factorial para evaluar el quitosan como material quelatante de metales en aguas residuales. Como ejemplo se determinará la capacidad de quelación para plomo y mercurio.



## ***CAPÍTULO II***

## **CAPÍTULO II**

### **PARTE EXPERIMENTAL**

#### **2.1 Material**

Ácido clorhídrico, ácido acético, metanol, hidróxido de amonio, acetato de sodio, ácido láctico, ácido cítrico, ácido adípico, ácido propiónico, ácido malónico, ácido málico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, dicromato de potasio, nitrato de mercurio, nitrato de plomo, todos obtenidos de Productos Químicos Monterrey. Ácido fórmico obtenido de J.T BAKER. Ácido oxálico, ácido tartárico, obtenidos de Control Técnico y Representaciones (CTR). Todos los reactivos fueron de grado analítico. Hidróxido de sodio obtenido de KISCAM de grado industrial. Agua nanopura tipo ASTM-1 obtenida por un sistema de purificación de agua nanopura. El camarón se consiguió en el Restaurante “El timón” de Monterrey N.L.

#### **2.2 Equipo**

Espectrómetro de Infrarrojo Perkin Elmer, modelo PARAGON 1000PC. Espectrómetro de Absorción Atómica Varian, modelo SpectrAA-5 con accesorio de generador de hidruros Varian, modelo VGA77. Sistema de Microondas para preparación de muestras marca CEM, modelo MSP1000. Potenciómetro marca Orion modelo 290A. Sistema de purificación de agua nanopura marca Barnstead. Desecador a vacío, Precision Scientific Inc.

#### **2.3 Planeación Experimental**

La Figura 3 muestra un esquema general del procedimiento a seguir para aislar, conocer los parámetros que afectan al proceso de obtención de quitosan, caracterizar, y evaluar la capacidad del quitosan como agente quelatante enfocando así la planeación a los objetivos planteados en este desarrollo.

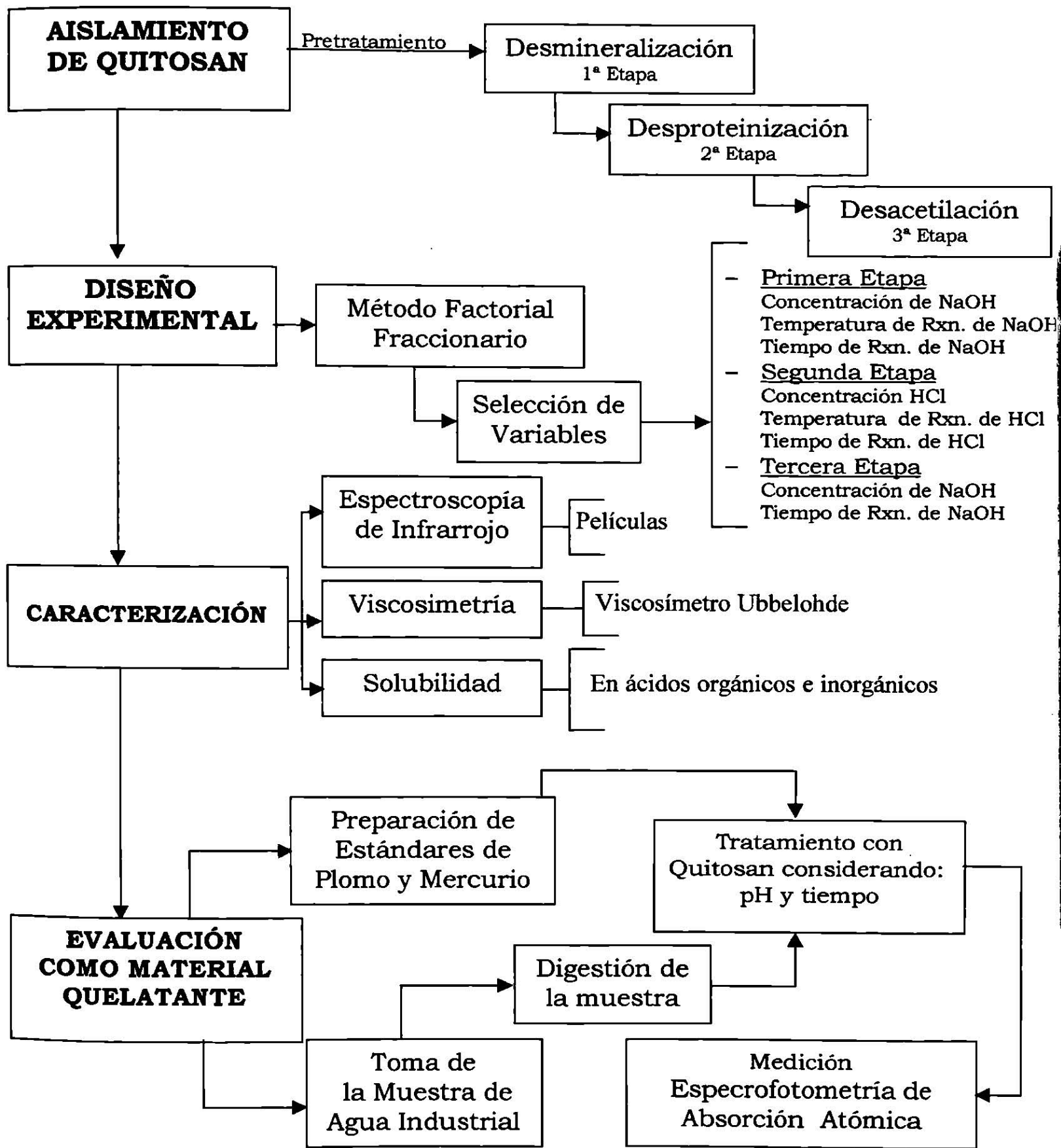


Figura 3. Desarrollo Experimental

## 2.4 Aislamiento de Quitosan

El aislamiento se realizó a partir de caparazones de camarón y consta de tres etapas: desproteínización, desmineralización y posteriormente una desacetilación, obteniendo así el quitosan<sup>(14)</sup>.

A continuación se describe cada una de las etapas del aislamiento de quitosan

### *Pretratamiento*

Los caparazones de camarón fueron recolectados, trozados y homogenizados para su almacenamiento en un congelador, evitando su posterior descomposición. Antes de ser usados, fue necesario secarlos por 20 minutos en una campana de extracción.

### *Desproteínización*

Se colocaron 15 g de caparazón en un matraz de tres bocas con 250 mL de NaOH al 50% p/v, se calentó y mantuvo a 80°C en reflujo durante 2.5 horas, se filtró y lavó el material con agua, se dejó remojando en agua por una noche y se continuó el lavado hasta obtener un pH entre 5-6<sup>(22)</sup>.

### *Desmineralización*

Después de la desproteínización, al material lavado se le añadieron 250 mL de HCl al 15% v/v, se calentó y mantuvo a 60°C en reflujo durante 2 horas, se filtró y lavó el material con agua hasta obtener un pH entre 5-6<sup>(22)</sup>.

### *Desacetilación*

El material desmineralizado se trató con 200 mL de NaOH al 50% p/v, se calentó y mantuvo a 80°C en reflujo durante 1.5 horas, se filtró y lavó el material, se dejó remojando en agua por media hora y se continuó el lavado hasta tener un pH entre 5-6, y secándose a temperatura ambiente<sup>(22)</sup>.

## 2.5 Diseño Experimental

El diseño de experimentos se realizó en base al método factorial fraccionario<sup>(23)</sup>, como se muestra en la Figura 3. En la Tabla 3 se muestra el diseño factorial fraccionario.

Para el aislamiento del quitosan se utilizaron siete variables:

- a: Concentración de NaOH (%p/v), en la etapa de desproteínización y en la desacetilación
- b: Concentración de HCl (%v/v), en la etapa de desmineralización
- c: Temperatura (°C) de reacción en la etapa de desproteínización y en la desacetilación
- d: Temperatura (°C) de reacción en la etapa de desmineralización
- e: Tiempo (hrs) de reacción en la etapa de desproteínización
- f: Tiempo (hrs) de reacción en la etapa de desmineralización
- g: Tiempo (hrs) de reacción en la etapa de desacetilación

Tabla 3. Diseño Factorial Fraccionario a Seguir para el Aislamiento de Quitosan

<b>Experimento</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>c</b>	<b>d</b>	<b>e</b>	<b>f</b>	<b>g</b>
<b>1</b>	-	-	-	+	+	+	-
<b>2</b>	+	-	-	-	-	+	+
<b>3</b>	-	+	-	-	+	-	+
<b>4</b>	+	+	-	+	-	-	-
<b>5</b>	-	-	+	+	-	-	+
<b>6</b>	+	-	+	-	+	-	-
<b>7</b>	-	+	+	-	-	+	-
<b>8</b>	+	-	+	+	+	+	+

En la tabla 4 se muestran los valores máximos y mínimos de las variables del diseño factorial fraccionario establecidos, estos valores se tomaron a partir de los resultados generados en el aislamiento de quitosan por Ureña Hernández<sup>(22)</sup>.

Tabla 4. Valores Máximo y Mínimo de las Variables del Diseño Factorial Fraccionario

VARIABLE	MÁXIMO (+)	MÍNIMO (-)
a	60	50
b	15	5
c	80	60
d	70	60
e	4	2
f	2	1
g	2	1

Como un ejemplo del método del diseño de experimentos se describen a continuación las condiciones del experimento 6.

#### *Desproteínización*

En un matraz de tres bocas con 15 g de caparazón y 250 mL de NaOH al 60% p/v, se calentó y mantuvo a 80°C en reflujo durante 4 horas, se filtró y lavó el material con agua, se dejó remojando en agua por una noche y se continuó el lavado hasta obtener un pH entre 5-6.

#### *Desmineralización*

Después de la desproteínización, al material lavado se le añadieron 250 mL de HCl al 5% v/v, se calentó y mantuvo a 60°C en reflujo durante 1 hora, se filtró y lavó el material con agua hasta obtener un pH entre 5-6.

#### *Desacetilación*

El material desmineralizado se trató con 200 mL de NaOH al 80% p/v, se calentó y mantuvo a 80°C en reflujo durante 1 hora, se filtró y lavó el material con agua, se dejó remojando en agua por media hora y se continuó el lavado hasta tener un pH entre 5-6, y se dejó secar el material.

## **2.6 Caracterización**

La caracterización se realizó como se muestra en la Figura 3. Se realizaron pruebas de solubilidad con ácidos orgánicos e inorgánicos como parte de la caracterización cualitativa del quitosán.

Se fabricaron películas de quitosan y por medio de espectroscopía de infrarrojo se calculó el porcentaje de desacetilación.

El peso molecular se determinó por viscosimetría, técnica basada en el uso del viscosímetro Ubbelohde para generar información y calcular los pesos moleculares.

### **2.6.1 Solubilidad**

La solubilidad del quitosan se determinó de la siguiente manera<sup>(10)</sup>:

1. Se hicieron pruebas de solubilidad en los siguientes ácidos: Ácido fórmico, acético, propiónico, oxálico, malónico succínico, adípico láctico, pirúvico málico, tartárico y cítrico, ácido nítrico, clorhídrico, fosfórico y sulfúrico.
2. La concentración de los ácidos orgánicos fue de 10% y la de los inorgánicos fué de 0.5%.
3. La prueba de solubilidad se realizó utilizando 0.1 g de quitosan y 10 ml de cada ácido.

### **2.6.2 Espectroscopía de Infrarrojo**

Para la caracterización de espectroscopía de infrarrojo se analizaron películas de quitosan, estas películas se fabricaron de la siguiente manera<sup>(22)</sup>:

1. Se disolvió 0.1 g de quitosan en 10 ml de una solución de ácido acético 1% v/v.
2. Después de una semana se filtró la solución, el filtrado se recuperó en una caja Petri, y se dejó secar tres días a temperatura ambiente.
3. Se lavó la película con una solución de metanol - hidróxido de amonio 1:1 (la solución de hidróxido de amonio al 5% v/v), enseguida con agua y por último con metanol y se dejó secar por tres días a temperatura ambiente.
4. Se continuó con el secado de la película por un día en un desecador a vacío.
5. Se realizó el espectro infrarrojo de la película de quitosan y se calculó el porcentaje de desacetilación de la siguiente manera:

- a) En el espectro infrarrojo, escalado en absorbancia se trazó una línea base en los rangos de longitud de onda de  $3600-2500\text{ cm}^{-1}$  y  $1900-1100\text{ cm}^{-1}$ .
- b) Se midió la altura del pico en centímetros de los grupos hidroxilos y amida que se encuentran alrededor de  $3445-3500\text{ cm}^{-1}$  y  $1647-1655\text{ cm}^{-1}$  respectivamente.
- c) Se calculó la absorbancia real para los picos y utilizando la Fórmula (1) se determinó el porcentaje de N-acetilación. La diferencia con 100 dio el porcentaje de desacetilación.

### 2.6.3 Viscosimetría

El quitosan obtenido después del diseño de experimentos, requirió un tratamiento de purificación previo a la determinación de viscosidad de la siguiente manera:

1. Se prepararon soluciones al 1% de ácido acético 1% v/v.
2. Se filtró a vacío con microfiltros de  $35-50\text{ }\mu\text{m}$ .
3. El filtrado se recuperó en una caja petri y se dejó secar a temperatura ambiente.
4. Se lavó la película con una solución de metanol - hidróxido de amonio 1:1, enseguida con agua y por último con metanol y se dejó secar por tres días a temperatura ambiente.
5. Se continuó con el secado de la película por un día en un desecador a vacío.

El quitosan purificado se utilizó para preparar soluciones al 0.5% en una solución de acetato de sodio/ácido acético y se procedió a la medición de viscosidad<sup>(24)</sup> utilizando de 8 a 10 mL. Antes de trabajar con las soluciones de quitosan fue necesario determinar el tiempo de flujo del solvente acetato de sodio/ácido acético, siendo determinado de la siguiente manera:

- a) El viscosímetro fue lavado con mezcla crómica, agua, acetona y la solución a determinar. Este lavado se siguió antes de cada determinación.
- b) Se colocó el viscosímetro dentro de un baño de agua a  $24^{\circ}\text{C}$ .
- c) Se colocó en el bulbo receptor como se observa en la Figura 4, la cantidad conocida de la solución a determinar.



- d) Se succionó la solución por la rama B, hasta que sobrepasó la marca superior C, manteniendo cerrada la rama D con el dedo índice.
- e) Se destapó la rama D, permitiendo así el paso del flujo de la solución a través de la rama B.
- f) Se determinó el tiempo que el solvente necesitaba para cruzar la marca C a la E.
- g) Se repitió el procedimiento hasta tener tres tiempos con una diferencia de 0.3 segundos y se promediaron los resultados. Cuando se trabajó con soluciones de quitosan se continuó con el inciso h.
- h) Se agregó la cantidad necesaria de solvente para diluir la solución determinada y se continuó el procedimiento a partir del inciso c, así sucesivamente hasta tener cinco concentraciones de cada solución.

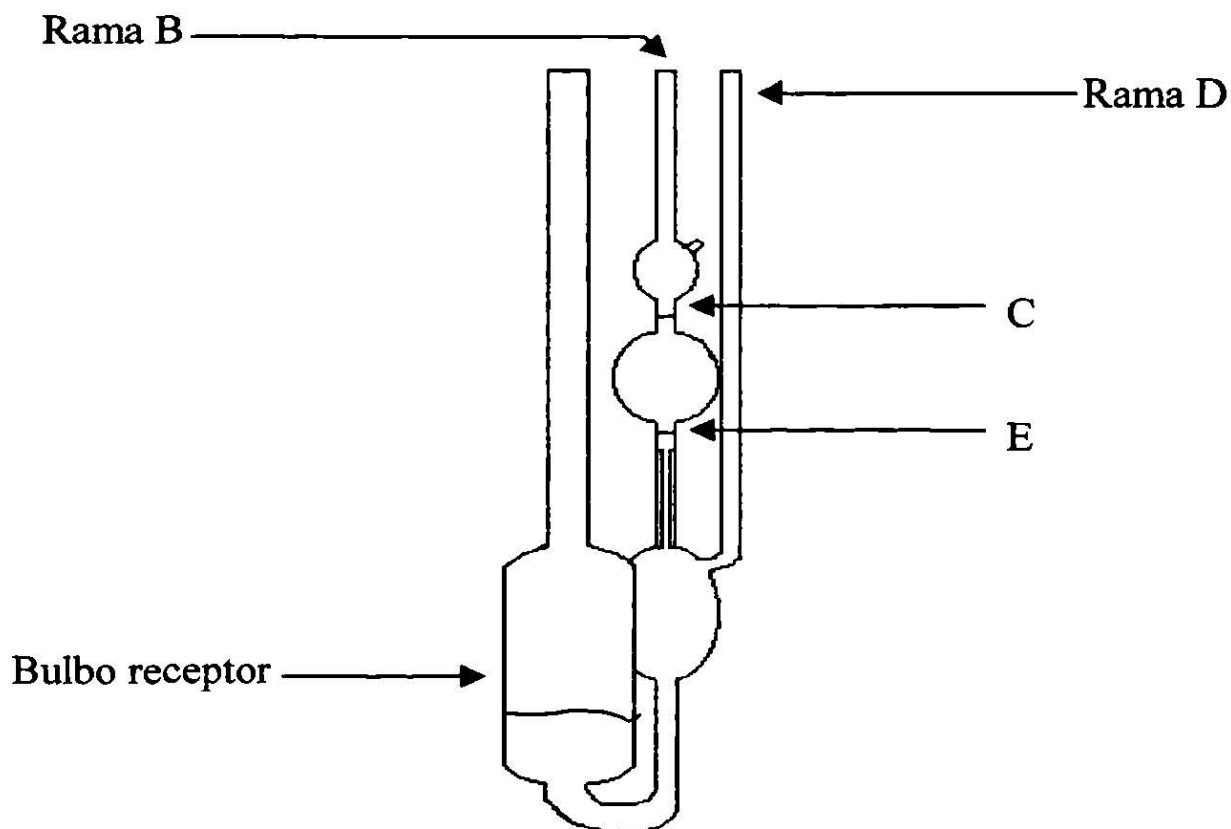


Figura 4. Viscosímetro Ubbelohde

## **2.7 Evaluación como Agente Quelatante**

La evaluación como agente quelatante se realizó como se muestra en la Figura 3. Esta evaluación consistió en obtener el pH y tiempo de contacto óptimos al cual ocurre una máxima quelación del metal por el quitosán, se realizaron experimentos con estándares de plomo y mercurio.

Bajo las condiciones óptimas de pH y tiempo de contacto se trató una muestra de agua residual industrial.

### **2.7.1 Preparación de Estándares**

Los estándares fueron preparados a partir de sales de nitrato de plomo y nitrato de mercurio.

#### Estandar de 30 ppm de plomo:

Se prepararon 9 soluciones estándares de 30 ppm de plomo cada una a pH diferente de 3 a 11. Cada estandar se dividió en tres partes de 100 mL, dos de ellas fueron utilizadas para tratarse con quitosán a 1.5 y 3 horas, la restante se utilizó para determinar el porcentaje de recuperación del metal. Para conservar los estándares se utilizaron frascos de polipropileno (previamente estabilizados con ácido nítrico y agua nanopura por 48 horas) y se almacenaron bajo refrigeración (4°C), para su posterior aplicación con quitosán.

#### Estandar de 30 ppb de mercurio:

Se preparó un estandar de 1000 ppb de mercurio en ácido nítrico diluido. A partir de aquí se tomaron alícuotas para preparar 9 soluciones estandar de 30 ppb de mercurio cada una a pH diferente de 3 a 11. Cada estandar se dividió en tres partes de 100 mL, dos de ellas fueron utilizadas para tratarse con quitosán a 1.5 y 3 horas, la restante se utilizó para determinar el porcentaje de recuperación del metal. Para conservar los estándares se utilizaron frascos de vidrio color ámbar (previamente estabilizados con ácido nítrico y agua nanopura por 48 horas) y se almacenaron bajo refrigeración (4°C), para su posterior aplicación con quitosán.

### **2.7.2 Tratamiento de Estándares con Quitosan**

Para el tratamiento de los estándares con quitosan las soluciones estandar de plomo y mercurio se llevaron a 25°C.

1. A cada una de las soluciones estandar de 100 mL, colocados en vasos de precipitado, se le añadió 0.2 g de quitosan. La mitad de las soluciones permaneció con agitación por 1.5 hrs y la otra mitad por 3 hrs a temperatura ambiente.
2. Se filtró cada una de las soluciones estandar sobre papel filtro No. 41, se guardó el sólido (quitosan) y se almacenó la solución en sus respectivos frascos para su posterior medición de plomo y mercurio por medio de espectrofotometría de absorción atómica.

### **2.7.3 Determinación de Plomo y Mercurio por Espectrofotometría de Absorción Atómica**

La determinación de metales en las diferentes soluciones, se llevó acabo por medio de espectrofotometría de absorción atómica.

Para realizar la medición fue necesario:

1. Calibrar el equipo, para ello se utilizaron estandar certificados, para el plomo fueron estándares de 0, 5, 10 y 30 ppm y para el mercurio 0, 10, 20 y 30 ppb.
2. Una vez construída la curva de calibración y calibrado el equipo, se determinó el plomo y el mercurio en cada solución tratada y sin tratar con quitosan.

### **2.7.4 Determinación de Plomo en una Muestra de Agua Industrial**

Después del tratamiento con quitosan como agente quelatante en muestras estandar de plomo y mercurio, se procedió a la aplicación de quitosan a una muestra de agua industrial de la comunidad. El procedimiento para la determinación de plomo consistió en el siguiente:

1. A 100 mL de la muestra se le midió el pH, enseguida se ajustó éste a las condiciones de mayor quelación del plomo que fué a un pH 10 y se añadieron 0.2 g de quitosan, agitando por un tiempo de 3 hrs.

2. Después de este tiempo se filtró en papel filtro No. 41, y se procedió a realizar una digestión del filtrado para eliminar materia orgánica presente, ésta se realizó de la siguiente manera:
- Se colocaron 45 mL de la muestra en vasos de teflón para realizar la digestión por microondas, se agregaron 5 mL de ácido nítrico concentrado y verificando que los vasos estuvieran bien cerrados para cumplir con a las normas de seguridad del equipo de microondas, se procedió a llevar acabo la digestión.
  - El programa utilizado se muestra en la Tabla 5, el cual fue previamente establecido dependiendo de la cantidad de vasos que se iban a introducir y del tipo de muestra.
  - Después de la digestión, se filtró y se aforó la muestra a 50 mL y se guardó en un vaso de polipropileno bajo refrigeración (4°C), para su posterior medición de plomo en el espectrofotómetro de absorción atómica.

Tabla 5. Condiciones para digestión

Parámetros	Condiciones
Poder	800 Watts
Presión	70 psi
Etapas	1 etapa
Tiempo de digestión	20 minutos
Tiempo para estabilizar la presión	10 minutos

# ***CAPÍTULO III***

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 3.1 Aislamiento de Quitosan

El aislamiento de quitosan se realizó a partir de caparazones de camarón con una desproteínización, desmineralización, y desacetilación del material, estableciendo así un método reproducible y confiable<sup>(14)</sup>.

Se realizaron en total 18 experimentos. Se partió de las condiciones utilizadas por Peña Cantú<sup>(25)</sup>, en las cuales se variaron concentraciones de hidróxido de sodio y ácido clorhídrico, seguido de variaciones de temperatura y tiempo. De dichas variaciones se realizaron pruebas de solubilidad a los productos donde la viscosidad observada variaba con las condiciones de trabajo, siendo un objetivo de este trabajo el obtener quitosan con solubilidad en ácido acético 1%v/v.

En la Tabla 6 se muestran los experimentos realizados con la variación de las condiciones de trabajo, el porcentaje de desacetilación, porcentaje de obtención y solubilidad donde el producto era en forma de cáscaras u hojuelas de distintos colores parcialmente solubles en ácido acético 1%; se comprobó por solubilidad y espectroscopía de infrarrojo que los productos obtenidos eran efectivamente quitosan y comparado con las condiciones de Peña Cantú el producto se obtuvo en tres etapas y no en cuatro.

El producto obtenido en el experimento 7 de la tabla 6 fue el que presentó una mayor solubilidad y viscosidad. Por este motivo se eligieron las siguientes condiciones para probar la reproducibilidad del método de aislamiento:

- Primera etapa hidróxido de sodio 50% por 2.5 hrs a 80°C
- Segunda etapa ácido clorhídrico 15% por 2 hrs a 60°C
- Tercera etapa hidróxido de sodio 50% por 1.5 hrs a 80°C

Tabla 6. Experimentos Realizados con la Variación de las Condiciones de Trabajo

EXP	CONDICIONES			Porcentaje de Obtención	Porcentaje de Desacetilación	Observaciones
	1era Etapa	2da Etapa	3era Etapa			
1	NaOH 40% por 2hrs a 60° C	HCl 15% por 2hrs a 60°C	NaOH 40% por 1.5hrs a 60°C	12.8	*	Hojuelas insolubles en ácido acético 1%
2	NaOH 50% por 2hrs a 60° C	HCl 15% por 2hrs a 60°C	NaOH 50% por 1.5hrs a 60°C	8.2	58	Hojuelas solubles en ácido acético 1%
3	NaOH 40% por 2hrs a 60° C	HCl 15% por 2hrs a 60°C	NaOH 50% por 1.5hrs a 60°C	12	*	Hojuelas poco solubles en ácido acético 1%
4	NaOH 50% por 2hrs a 60° C	HCl 15% por 2hrs a 60°C	NaOH 50% por 2hrs a 60°C	14.7	*	Hojuelas poco solubles en ácido acético 1%
5	NaOH 50% por 5h a 60° C	HCl 15% por 2hrs a 60°C	NaOH 50% por 2hrs a 60°C	7.9	68	Hojuelas solubles en ácido acético 1%
6	NaOH 50% por 2hrs a 80° C	HCl 15% por 2hrs a 60°C	NaOH 50% por 1.5hrs a 80°C	1.8	67	Hojuelas solubles en ácido acético 1%
7	NaOH 50% por 2.5hrs a 80° C	HCl 15% por 2hrs a 60°C	NaOH 50% por 1.5hrs a 80°C	9.4	68	Hojuelas solubles en ácido acético 1%
8	NaOH 50% por 2hrs a 80° C	HCl 15% por 1hrs a 80°C	NaOH 50% por 1.5hrs a 80°C	4.5	*	Hojuelas solubles en ácido acético 1%

NOTA: El experimento 1 se realizó por triplicado y el experimento seis por duplicado

\* No se determino su porcentaje de desacetilación debido a su poca solubilidad en ácido acético 1%.

En la Tabla 7 se muestran los resultados de reproducibilidad del experimento 7, bajo estas condiciones, se reprodujo en forma confiable el aislamiento del biopolímero. Los porcentajes de desacetilación fueron constantes con un 68%, a excepción de sus porcentajes de obtención, donde el experimento dos y tres fueron muy bajos, debido a que los días estaban húmedos y el caparazón de camarón se peso con más humedad de lo que normalmente se pesaba, afectando esto a su porcentaje de obtención.

De esta manera, con estas condiciones se puede continuar con un diseño de experimentos para obtener quitosan de un porcentaje de desacetilación cercano a 100%.

Tabla 7. Experimento 7 Reproducido

Experimento	Porcentaje de Obtención	Porcentaje de Desacetilación
1	9.40	68
2	7.4	68
3	3.24	68
4	9.82	68
5	9.94	68
6	10.97	68

### 3.2 Diseño Experimental

Se utilizó el método factorial fraccionario<sup>(23)</sup>, con el objetivo de explorar las condiciones del aislamiento de quitosan, obteniendo de esta manera un porcentaje de desacetilación más cercano a 100%. En el presente estudio se aplica a una serie de ocho experimentos con siete variables cada uno con un valor máximo y mínimo. Estos valores se eligieron de acuerdo a los resultados obtenidos del experimento 7 de la Tabla 6.

En la Tabla 8 se muestra el diseño factorial fraccionario y en la Tabla 9 se muestra el diseño factorial fraccionario con los valores de las variables utilizadas.

La identificación de las siete variables es:

- a: Concentración de NaOH (%p/v) en la etapa de desproteínización y en la desacetilación
- b: Concentración de HCl (%v/v) en la etapa de desmineralización
- c: Temperatura (°C) de reacción en la etapa de desproteínización y en la desacetilación
- d: Temperatura (°C) de reacción en la etapa de desmineralización
- e: Tiempo (hrs) de reacción en la etapa de desproteínización
- f: Tiempo (hrs) de reacción en la etapa de desmineralización
- g: Tiempo (hrs) de reacción en la etapa de desacetilación



Tabla 8. Diseño Factorial Fraccionario a Seguir para el Aislamiento de Quitosan

<b>Experimento</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>c</b>	<b>d</b>	<b>e</b>	<b>f</b>	<b>g</b>
<b>1</b>	-	-	-	+	+	+	-
<b>2</b>	+	-	-	-	-	+	+
<b>3</b>	-	+	-	-	+	-	+
<b>4</b>	+	+	-	+	-	-	-
<b>5</b>	-	-	+	+	-	-	+
<b>6</b>	+	-	+	-	+	-	-
<b>7</b>	-	+	+	-	-	+	-
<b>8</b>	+	-	+	+	+	+	+

Tabla 9. Diseño Factorial Fraccionario con los Valores de las Variables

<b>Experimento</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>c</b>	<b>d</b>	<b>e</b>	<b>f</b>	<b>g</b>
<b>1</b>	50	5	60	70	4	2	1
<b>2</b>	60	5	60	60	2	2	2
<b>3</b>	50	15	60	60	4	1	2
<b>4</b>	60	15	60	70	2	1	1
<b>5</b>	50	5	80	70	2	1	2
<b>6</b>	60	5	80	60	4	1	1
<b>7</b>	50	15	80	60	2	2	1
<b>8</b>	60	15	80	70	4	2	2

En la Tabla 10 se muestran las condiciones de los experimentos realizados aplicando el diseño factorial fraccionario.

Tabla 10. Condiciones de los Experimentos del Aislamiento de Quitosan Aplicando el Diseño Factorial Fraccionario

EXPERIMENTO	CONDICIONES		
	1era Etapa	2da Etapa	3era Etapa
1	NaOH 50% por 4hrs a 60° C	HCl 5% por 2hrs a 70°C	NaOH 50% por 1hrs a 60°C
2	NaOH 60% por 2hrs a 60° C	HCl 5% por 2hrs a 60°C	NaOH 60% por 2hrs a 60° C
3	NaOH 50% por 4hrs a 60° C	HCl 15% por 1hrs a 60°C	NaOH 50% por 2hrs a 60° C
4	NaOH 60% por 2hrs a 60° C	HCl 15% por 1hrs a 70°C	NaOH 60% por 1hrs a 60° C
5	NaOH 50% por 2hrs a 80° C	HCl 5% por 1hrs a 70°C	NaOH 50% por 2hrs a 80° C
6	NaOH 60% por 4hrs a 60° C	HCl 5% por 1hrs a 60°C	NaOH 60% por 1hrs a 60° C
7	NaOH 50% por 2h a 80° C	HCl 15% por 2hrs a 60°C	NaOH 50% por 1hrs a 80° C
8	NaOH 60% por 4h a 60° C	HCl 15% por 2hrs a 70°C	NaOH 60% por 2hrs a 60° C

Tabla 11. Resultados del Diseño Factorial Fraccionario

EXP	A Porcentaje de Obtención	B Porcentaje de Desacetilación	C Peso Molecular g/mol	D Solubilidad*
1	14.27	67.67	174,168	1
2	5.85	72.80	566,065	2
3	16.47	69.20	339,824	1
4	1.39	54.00	1'561,282	2
5	18.25	72.83	216,037	1
6	5.91	83.75	419,810	2
7	18.87	68.90	374,017	1
8	0.00	0.00	0	0

\* Solubilidad  
 0 insoluble  
 1 parcialmente soluble  
 2 soluble

En la Tabla 11 se muestran los resultados obtenidos del diseño de experimentos. Se observa que para el experimento 6 se obtiene el porcentaje de desacetilación más alto con valor de 83.70% debido a las condiciones del aislamiento, las cuáles en la primera etapa fueron condiciones más severas (hidróxido de sodio 60%, 80°C por 4 hrs) con el fin de eliminar toda la proteína presente en el caparazón de camarón. Para la segunda etapa, se requirieron condiciones menos severas (ácido clorhídrico 5%, 60°C por 1 hr) para eliminar los carbonatos presentes y no solubilizar el quitosan desacetilado que potencialmente puede formarse en la primera etapa en el caparazón de camarón. En la tercera etapa se utilizaron condiciones básicas (hidróxido de sodio 60%, 80°C por 1 hr), desacetilando la máxima cantidad de quitina presente en 1 hora.

Todos los experimentos presentaron hojuelas solubles en ácido acético 1%, a excepción del experimento ocho, en donde sus condiciones fueron tan severas que se solubilizó el producto en el tratamiento con ácido clorhídrico.

### **3.4.1 Evaluación de los Efectos de las Variables Sobre las Respuestas**

Para evaluar el efecto que tuvo cada variable respecto al porcentaje de obtención, porcentaje de desacetilación, peso molecular y solubilidad, se realizó un tratamiento de datos a partir del diseño factorial fraccionario.

Al termino del tratamiento de datos, éstos nos indicaran cual variable tuvo más efecto sobre la respuesta, donde: Al obtenerse datos diferentes de cero hay un mayor efecto de esa variable sobre la respuesta, (porcentaje de obtención, porcentaje de desacetilación, peso molecular y solubilidad); si el dato esta alejado de cero en forma negativa quiere decir que el valor bajo de la variable afecta incrementando la respuesta; pero si el dato esta alejado de cero en forma positiva le afecta el valor alto de la variable disminuyendo la respuesta.

A continuación se muestran los cálculos de los efectos de cada variable sobre las respuestas:

**Efecto de las variables respecto al porcentaje de obtención**

Variable										
a	-14.27	+5.85	-16.47	+1.39	-18.25	+5.91	-18.87	+0/4	=	-13.68
b	-14.27	-5.85	+16.47	+1.39	-18.25	-5.91	+18.87	+0/4	=	-1.89
c	-14.27	-5.85	-16.47	-1.39	+18.25	+5.91	+18.87	+0/4	=	1.26
d	+14.27	-5.85	-16.47	+1.39	+18.25	-5.91	-18.87	+0/4	=	-3.30
e	+14.27	-5.85	+16.47	-1.39	-18.25	+5.91	-18.87	+0/4	=	-1.93
f	+14.27	+5.85	-16.47	-1.39	-18.25	-5.91	+18.87	+0/4	=	-0.76
g	-14.27	+5.85	+16.47	-1.39	+18.25	-5.91	-18.87	+0/4	=	0.03

En los cálculos se observa el efecto de cada variable del diseño factorial fraccionario, donde la variable que más efecto tiene sobre porcentaje de obtención es el nivel bajo de la concentración del hidróxido de sodio (50% p/v), en la etapa de desproteínización y en la etapa de desacetilación, incrementando esta variable los porcentajes de obtención.

**Efecto de las variables sobre el porcentaje de desacetilación**

Variable										
a	-67.67	+72.8	-69.2	+54	-72.83	+83.75	-68.9	+0/4	=	-17.01
b	-67.67	-72.8	+69.2	+54	-72.83	-83.75	+68.9	+0/4	=	-26.24
c	-67.67	-72.8	-69.2	-54	+72.83	+83.75	+68.9	+0/4	=	-9.55
d	+67.67	-72.8	-69.2	+54	+72.83	-83.75	-68.9	+0/4	=	-25.05
e	+67.67	-72.8	+69.2	-54	-72.83	+83.75	-68.9	+0/4	=	-11.98
f	+67.67	+72.8	-69.2	-54	-72.83	-83.75	+68.9	+0/4	=	-17.60
g	-67.67	+72.8	+69.2	-54	+72.83	-83.75	-68.9	+0/4	=	-14.87

En los cálculos se observa que las variables que más efecto tiene sobre el porcentaje de desacetilación, son los valores bajos de la concentración de ácido clorhídrico (5% v/v) y la temperatura de reacción (60°C) en la etapa de desmineralización, incrementando estas variables el porcentaje de desacetilación.

**Efecto de las variables sobre el peso molecular**

Variable										
a	-174,168	+566,065	-339,824	+1'561,282	-216,037	+419,810	-374,017	+0/4	=	360,778
b	-174,168	-566,065	+339,824	+1'561,282	-216,037	-419,810	+374,017	+0/4	=	224,761
c	-174,168	-566,065	-339,824	-1'561,282	+216,037	+419,810	+374,017	+0/4	=	-407,869
d	+174,168	-566,065	-339,824	+1'561,282	+216,037	-419,810	-374,017	+0/4	=	62,943
e	+174,168	-566,065	+339,824	-1'561,282	-216,037	+419,810	-374,017	+0/4	=	-445,900
f	+174,168	+566,065	-339,824	-1'561,282	-216,037	-419,810	+374,017	+0/4	=	-355,676

g      -174,168    +566,065    +339,824    -1'561,282    +216,037    -419,810    -374,017    +0/4 = -351,838

La mayoría de las variables (e, c, f, g, a, b) afectan el peso molecular, las variables que incrementan a éste, son las variables en el nivel bajo, tiempo de reacción (2hr) en la etapa de desproteínización, temperatura de reacción (60°C) en la etapa de desproteínización y desacetilación y el tiempo de reacción (1hr) en la etapa de desacetilación.

### Efecto de las variables sobre la solubilidad

Variable

a	-1	+2	-1	+2	-1	+2	-1	+0/4	= 0.5
b	-1	-2	+1	+2	-1	-2	+1	+0/4	= -0.5
c	-1	-2	-1	-2	+1	+2	+1	+0/4	= -0.5
d	+1	-2	-1	+2	+1	-2	-1	+0/4	= -0.5
e	+1	-2	+1	-2	-1	+2	-1	+0/4	= -0.5
f	+1	+2	-1	-2	-1	-2	+1	+0/4	= -0.5
g	-1	+2	+1	-2	+1	-2	-1	+0/4	= -0.5

Las variables b, c, d, e, f, ó g, en el nivel bajo incrementan la solubilidad.

### 3.3 Caracterización

El porcentaje de desacetilación se calculó por medio de la espectroscopía de infrarrojo, el peso molecular se determinó por medio de la medición de viscosidad, y se hicieron pruebas de solubilidad con distintos ácidos orgánicos e inorgánicos.

#### 3.3.1 Espectroscopía de Infrarrojo

Se calcularon los porcentajes de desacetilación por espectroscopía de infrarrojo para cada experimento del diseño factorial fraccionario, los cuales fueron por triplicado. En la Figura 5 se observa el espectro infrarrojo del experimento 6, el cual fue el experimento con más alto porcentaje de desacetilación, donde los principales grupos funcionales con su longitud de onda para identificar al quitosan fueron; los siguientes

Longitud de Onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Grupo Funcional
3400-3550	Estiramientos del Alcohol Secundario y de la Amina Primaria
2868-2884	Metilos y Metilenos
1647-1655	C=O de la amida
1074-1095	Eter

En la Figura 6 se muestra el cálculo del porcentaje de desacetilación del espectro infrarrojo del experimento 6, con un porcentaje de desacetilación del 83.75%, siendo éste el de más alto valor. Para el cálculo del porcentaje de desacetilación se utilizó el método reportado por Roberts en 1985 (11).

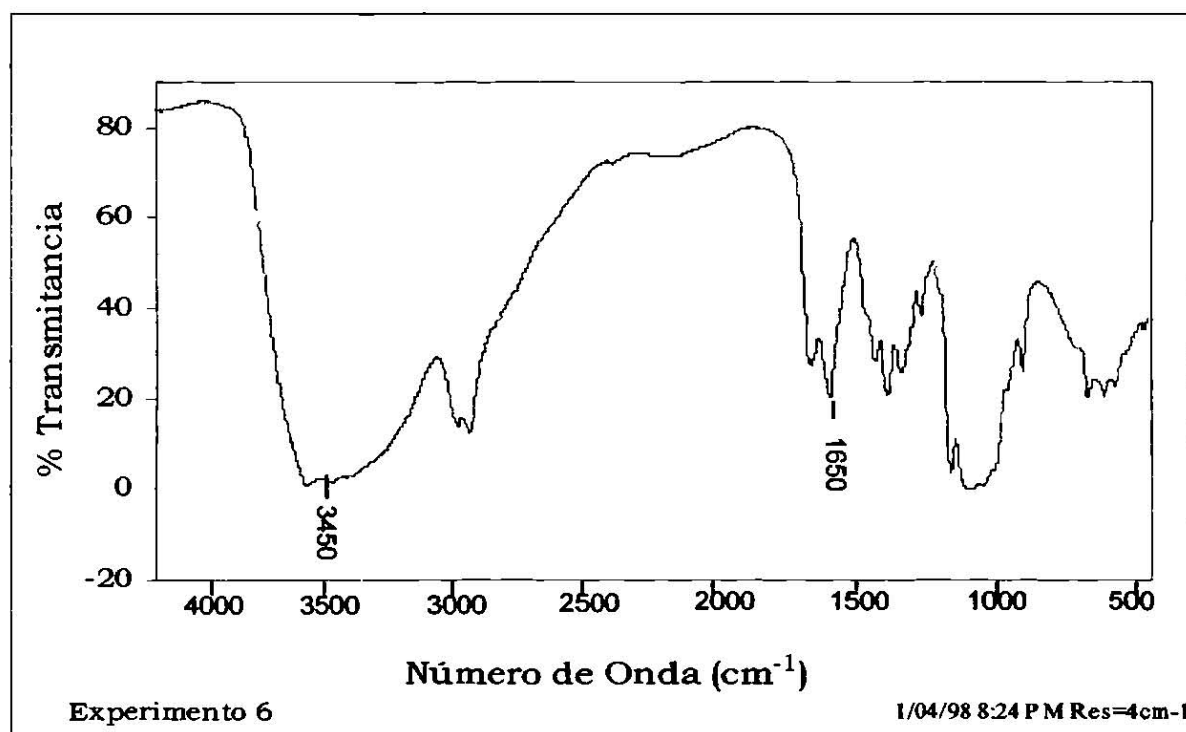


Figura 5. Espectro Infrarrojo del Experimento 6

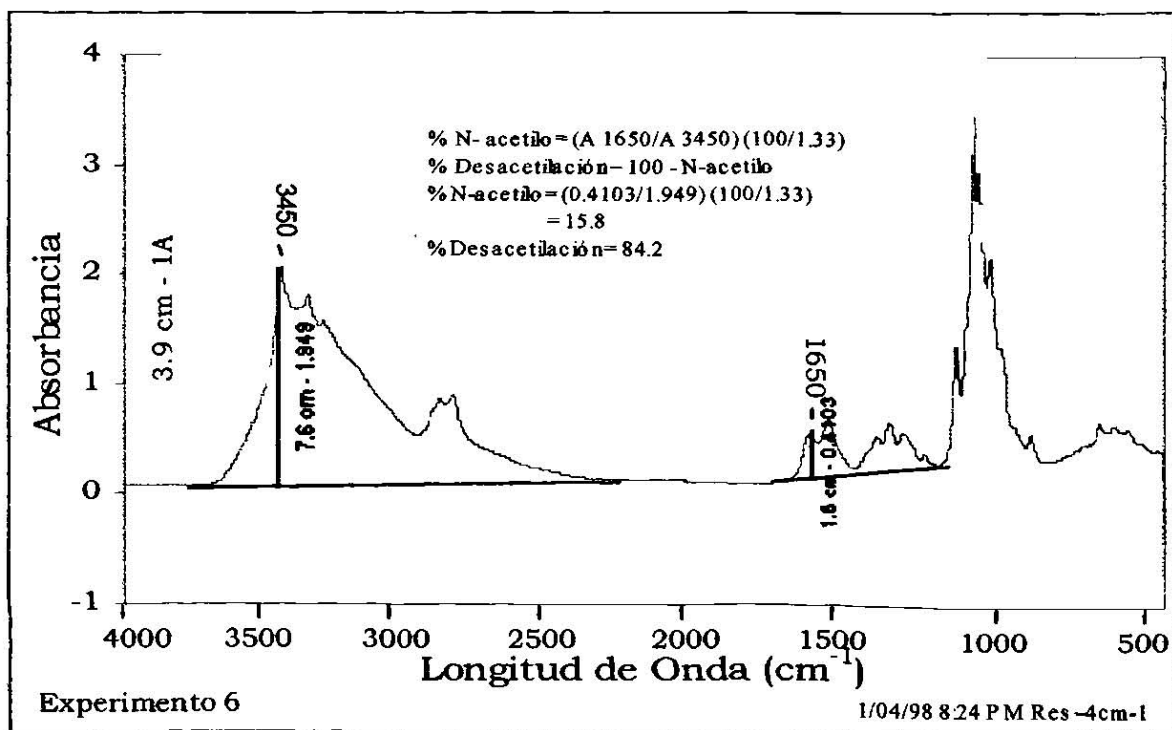
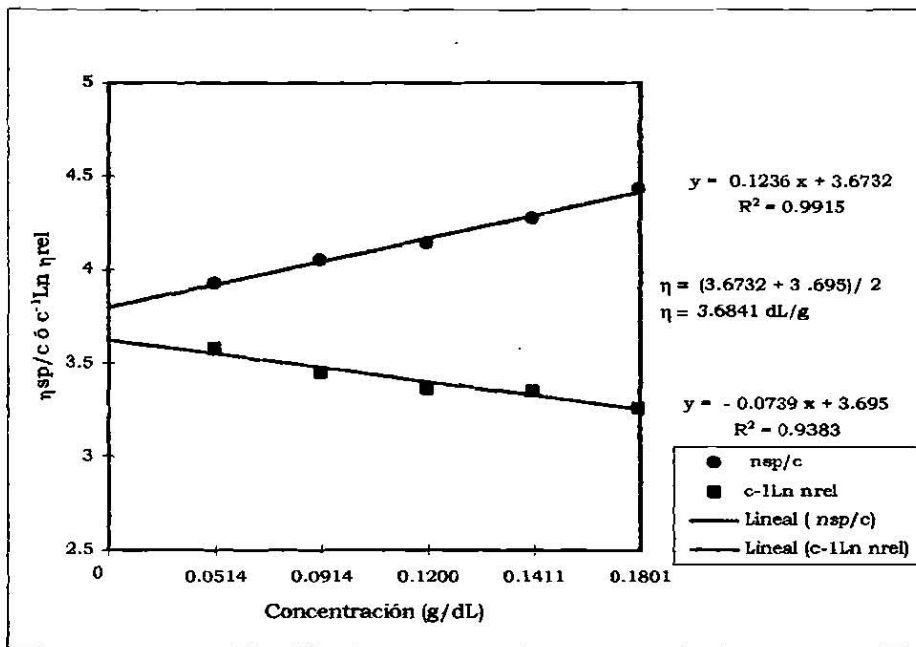


Figura 6. Cálculo del Porcentaje de Desacetilación del Experimento 6

### 3.3.2 Viscosimetría

Se utilizó la técnica de viscosimetría para calcular los pesos moleculares de los productos obtenidos del diseño factorial fraccionario del aislamiento de quitosán, los tres productos se mezclaron y se realizaron las mediciones de viscosidad en un viscosímetro Ubbelohde a una temperatura de 24°C. En la Figura 7 se muestra el cálculo del peso molecular del experimento 6 de la Tabla 9, donde se graficaron las concentraciones (g/dL) de quitosán contra la  $\eta_{sp}/C$  (viscosidad específica) y  $c^{-1} \ln \eta_{rel}$  (viscosidad relativa) donde la intersección de ambas ecuaciones en el eje 'y' es la viscosidad intrínseca  $[\eta]$ , y a partir de la Fórmula (3) de Mark-Houwink se calculó el peso molecular (M) del quitosán.



$$\eta = kM^\alpha \quad (3)$$

donde:

$$k = (1.64 \times 10^{-30}) \times (D.D^{14}) (\text{mL/g}) \quad (4)$$

$$\alpha = (-1.02 \times 10^{-2}) \times (D.D) + 1.82 \quad (5)$$

$$K = (1.64 \times 10^{-30}) \times (83.7^{14}) (\text{mL/g})$$

$$\alpha = (-1.02 \times 10^{-2}) \times (83.7) + 1.82$$

$$\eta = kM^\alpha$$

$$\eta = 368.41 \text{ mL/g}$$

$$k = 0.001358 \text{ mL/g}$$

$$\alpha = 0.96626$$

$$M = 419,810 \text{ g/mol}$$

Figura 7. Cálculo de Peso Molecular del Experimento 6

En la Tabla 12 se observan las condiciones del aislamiento de quitosan con sus respectivos pesos moleculares, ordenados en forma ascendente. Se observa que a medida que las condiciones del aislamiento son poco a poco más severas el peso molecular de los productos aumenta, siendo el experimento cuatro el de mayor peso molecular, pero al mismo tiempo el de mas bajo porcentaje de desacetilación. Esto se debe tal vez a las condiciones de trabajo empleadas, en las cuales se pierde una gran cantidad de proteínas y sales por lo que algo del biopolímero se solubilizaba en el medio, dejando fibras de quitosan.



Tabla 12. Condiciones y Resultados de Pesos Moleculares en Orden Ascendente

EXP	CONDICIONES			Peso Molecular g/mol
	1era Etapa	2da Etapa	3era Etapa	
1	NaOH 50% por 4hrs a 60° C	HCl 5% por 2hrs a 70°C	NaOH 50% por 1hrs a 60°C	174,168
5	NaOH 50% por 2hrs a 80° C	HCl 5% por 1hrs a 70°C	NaOH 50% por 2hrs a 80° C	216,037
3	NaOH 50% por 4hrs a 60° C	HCl 15% por 1hrs a 60°C	NaOH 50% por 2hrs a 60° C	339,824
7	NaOH 50% por 2hrs a 80° C	HCl 15% por 2hrs a 60°C	NaOH 50% por 1hrs a 80° C	374,017
6	NaOH 60% por 4hrs a 60° C	HCl 5% por 1hrs a 60°C	NaOH 60% por 1hrs a 60° C	419,810
2	NaOH 60% por 2hrs a 60° C	HCl 5% por 2hrs a 60°C	NaOH 60% por 2hrs a 60° C	566,065
4	NaOH 60% por 2hrs a 60° C	HCl 15% por 1hrs a 70°C	NaOH 60% por 1hrs a 60° C	1'561,282
8	NaOH 60% por 4hrs a 60° C	HCl 15% por 2hrs a 70°C	NaOH 60% por 2hrs a 60° C	*

\*No fue posible su determinación debido a que el biopolímero se solubilizó durante el proceso de obtención

### 3.3.3 Solubilidad

En la Tabla 13 se muestra la solubilidad para cada producto obtenido del método de optimización del aislamiento de quitosan con distintos ácidos orgánicos e inorgánicos. Se puede observar que la solubilidad varía de acuerdo al porcentaje de desacetilación. Esto se explica debido a que el quitosan es soluble en ácidos orgánicos y a medida que el porcentaje de desacetilación es más cercano a 100% es más soluble el biopolímero. La solubilidad además, tiene una relación muy estrecha con el porcentaje de obtención y peso molecular. Ya que a medida que el porcentaje de obtención disminuye, el peso molecular aumenta al igual que la solubilidad.

Tabla 13. Solubilidad en Ácidos Orgánicos e Inorgánicos

Acido	Exp 1	Exp 2	Exp 3	Exp 4	Exp 5	Exp 6	Exp 7	Exp 8
Acético 1%	+/-	+	+/-	+	+/-	+	+/-	*
Oxálico 10%	+/-	+	+/-	+	+/-	+	+/-	*
Cítrico 10%	+/-	+	+/-	+	+/-	+	+/-	*
Fórmico 10%	+/-	+	+/-	+	+/-	+	+/-	*
Láctico 10%	+/-	+	+/-	+	+/-	+	+/-	*
Malónico 10%	+/-	+	+/-	+	+/-	+	+/-	*
Propiónico 10%	+/-	+	+/-	+	+/-	+	+/-	*
Málico 10%	+/-	+	+/-	+	+/-	+	+/-	*
Adípico 10%	+/-	+	+/-	+	+/-	+	+/-	*
Succínico 10%	+/-	+	+/-	+	+/-	+	+/-	*
Tartárico 10%	+/-	+	+/-	+	+/-	+	+/-	*
Pirúvico 10%	+/-	+	+/-	+	+/-	+	+/-	*
Sulfúrico 0.5%	-	-	-	+/-	-	-	-	*
Nítrico 1%	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	*
Fosfórico 0.5%	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	*

\* No fue posible su determinación debido a que el biopolímero se solubilizó durante el proceso de obtención

+ soluble

+/- parcialmente soluble

- insoluble

### 3.4 Evaluación como Material Quelatante

La evaluación como material quelatante se realizó a partir del quitosán obtenido del experimento 6 el cual se muestra en la Tabla 14 donde se obtuvo el mayor porcentaje de desacetilación.

La evaluación se llevó a cabo en soluciones estándares de sales de nitrato de plomo y mercurio, analizando el comportamiento del quitosán a dos tiempos 1.5 y 3 hrs y a pH de 3 a 11.

#### 3.4.1 Evaluación como Material Quelatante en Soluciones de Plomo

Las soluciones preparadas de plomo fueron ajustadas a pH de 3 a 11 y filtradas para eliminar el hidróxido de plomo formado.

En la Tabla 14 y en la Figura 8 se muestran los resultados de concentración medida de plomo, así como los porcentajes de retención de plomo.

Se observa que el biopolímero retiene más al metal a un tiempo de 3hrs y a un pH 10 (95.65%).

El porcentaje de retención del biopolímero aumenta con el pH; debido a que el plomo se encuentra presente en solución como hidroxocomplejo, siendo así más fácilmente retenido por el biopolímero, el cual por sus grupos funcionales tiene una alta estabilidad a pH básicos.

Tabla 14. Concentración y Porcentaje de Retención de los Estándares de Plomo

pH	Concentración Estandar	Concentración de Pb (1.5hrs)	Concentración de Pb (3hrs)	Porcentaje de Retención de Plomo 1.5hrs	Porcentaje de Retención de Plomo 3hrs
3	19.3	16.9	15.8	12.44	18.13
4	20.0	11.2	11.1	44.00	44.50
5	19.7	9.1	5.6	53.81	71.57
6	19.4	9.0	6.7	53.61	65.46
7	14.5	3.9	3.1	73.10	78.62
8	14.2	2.6	1.4	81.69	90.14
9	11.1	1.7	1.4	84.68	87.39
10	11.5	0.7	0.5	93.91	95.65
11	11.4	1.9	1.1	83.33	90.35

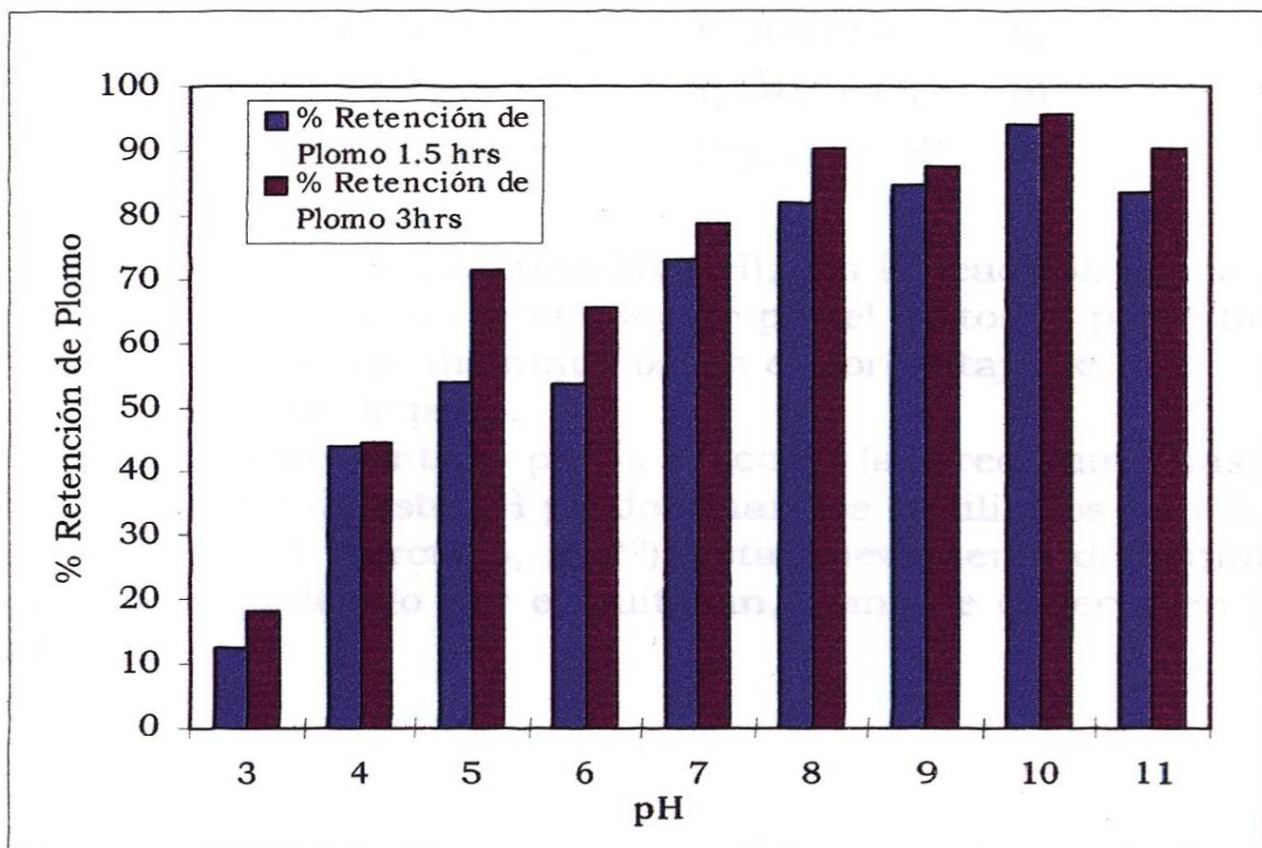


Figura 8. Porcentajes de Retención de Plomo vs pH

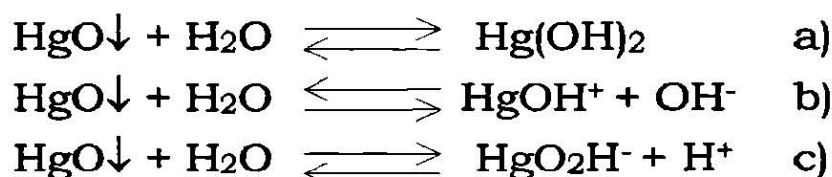
### 3.4.2 Evaluación como Material Quelatante en Soluciones de Mercurio

En la Tabla 15 se muestran los resultados de concentración medida de mercurio y el porcentaje de retención a distinto pH.

En la Figura 9, se observa que a un tiempo de contacto de 3hrs el biopolímero absorbe más al metal. A un pH 3 se obtiene el máximo porcentaje de retención del biopolímero (76%), disminuyendo éste hasta un pH 7 donde se obtuvo el porcentaje de retención más bajo (30%) y a partir de pH 8 aumenta nuevamente el porcentaje de retención hasta aproximadamente un 58%. Este comportamiento se debe a los equilibrios en los cuales participa el mercurio a distintos pH.

A pH 3 el mercurio es más fuertemente retenido por el quitosan, debido a que se encuentra libre ( $\text{Hg}^{+2}$ ) y en solución.

A pH mayores de 3 se forma el óxido de mercurio ( $\text{HgO}\downarrow$ ) el cual está en forma coloidal y se encuentra en equilibrio con moléculas de agua de acuerdo a las siguientes reacciones<sup>(26)</sup>:



El hidróxido de mercurio  $\text{Hg(OH)}_2$ , en la reacción (a), no está disponible para ser acomplejado por el quitosan por esta razón se observa una disminución en el porcentaje de retención a partir de pH 3.

El equilibrio representado por la reacción (a) predomina hasta pH 6.9, a partir de este pH predominan los equilibrios (b) y (c), de esta forma el mercurio, ( $\text{Hg}^{+2}$ ), está nuevamente disponible para ser acomplejado por el quitosan, como se observa en la Figura 9.

Tabla 15. Concentración y Porcentaje de Retención de los Estándares de Mercurio

pH	Concentración Estandar	Concentración de Hg (1.5hrs)	Concentración de Hg (3hrs)	Porcentaje de Retención del Mercurio 1.5hrs	Porcentaje de Retención del Mercurio 3hrs
3	18.77	4.93	4.39	73.73	76.61
4	20.51	6.4	5.07	68.80	75.28
5	18.65	9.27	9.09	50.29	51.26
6	16.97	10.62	9.49	37.48	44.08
7	19.06	13.16	13.3	30.95	30.22
8	19.96	16.59	11.05	16.88	44.64
9	21.08	17.46	12.91	17.17	38.76
10	21.29	10.8	9.38	49.27	55.94
11	22.45	12.66	9.29	43.56	58.57

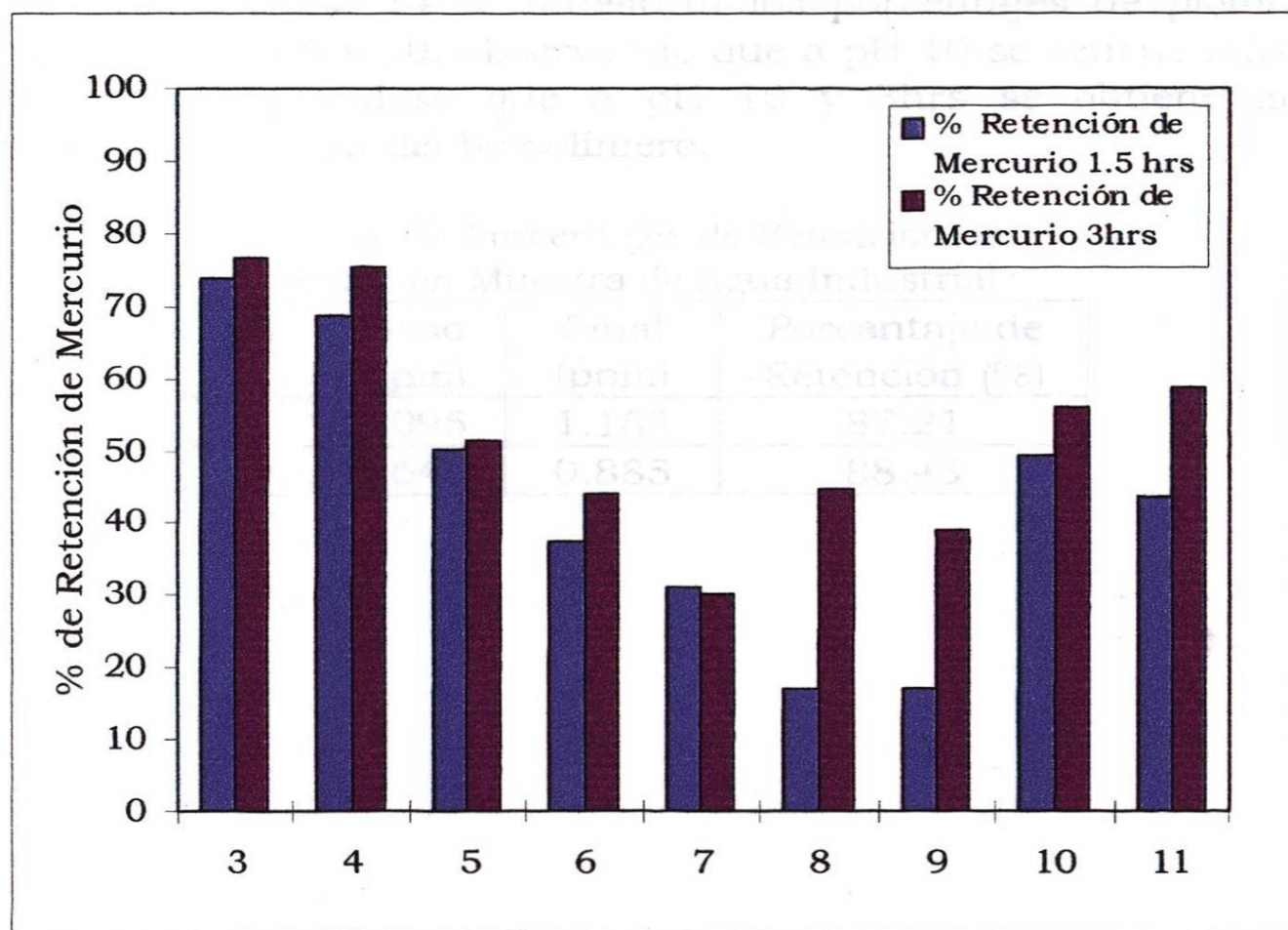


Figura 9. Porcentajes de Retención de Mercurio vs pH

### 3.4.3 Evaluación como Material Quelatante de Plomo en una Muestra de Agua Industrial

La evaluación se realizó con las mejores condiciones de absorción de plomo, tal como se muestra en la Tabla 16 a un pH de 10 por un tiempo de contacto de 3hrs con el biopolímero, en una muestra de agua industrial, proveniente de una empresa de la localidad, la cual tenía un pH de 8 ajustándose este a 10. Se tomó la muestra y se guardó una parte, a la otra se le agregó el quitosan para su tratamiento. Terminado el tratamiento se realizó la digestión de las muestras y se midió por absorción atómica el porcentaje de plomo.

En la Tabla 14 se muestran los porcentajes de plomo tanto para pH 8 y 10, observando que a pH 10 se retiene más metal, confirmándose que a pH 10 y 3hrs se obtiene la máxima absorción del biopolímero.

Tabla 16. Porcentajes de Retención de Plomo en Muestra de Agua Industrial

pH	Inicio (ppm)	Final (ppm)	Porcentaje de Retención (%)
8	9.095	1.163	87.21
10	7.647	0.885	88.43

# ***CAPÍTULO IV***

## **CAPÍTULO IV**

### **CONCLUSIONES**

- Se realizó el aislamiento del quitosan a partir de caparazones de camarón en tres etapas de una forma reproducible.
- Se utilizó el diseño factorial fraccionario para explorar las condiciones del aislamiento de quitosan, donde el hidróxido de sodio 50%p/v en la etapa de desproteización y desacetilación; ácido clorhídrico 5%v/v a 60°C en la etapa de desmineralización; hidróxido de sodio a 60°C y 2hrs en la etapa de desproteización, hidróxido de sodio 60°C y 1hr en la etapa de desacetilación, incrementaron el porcentaje de obtención, porcentaje de desacetilación, peso molecular y solubilidad de los productos obtenidos respectivamente.
- Se obtuvieron dos métodos apropiados para la obtención de quitosan, el experimento 2 con un porcentaje de desacetilación de 72.8% y un peso molecular de 506,592g/mol; y el experimento 6 con un porcentaje de desacetilación de 83.7% y un peso molecular de 419,810g/mol los cuales obtuvieron el porcentaje de desacetilación y peso molecular más altos siendo ambos totalmente solubles en soluciones ácidas.
- Se evaluó el quitosan como material quelatante en soluciones estándares de plomo y mercurio: para el plomo, el rango de pH donde se retuvo más metal fue de 7 a 11 y a un tiempo de 3 hrs; mientras que para el mercurio fue a pH de 3 a 5 y a un tiempo de 3 hrs.
- Se realizó la aplicación del quitosan en una muestra de agua industrial para la quelación de plomo, empleando los resultados de la evaluación de quitosan y obteniendo un porcentaje de retención del 88.43% de plomo, a un pH de 10 y un tiempo de contacto de 3 hrs. Por lo anterior se concluye que el quitosan representa un buen agente acomplejante de metales por lo que su uso en el tratamiento de aguas residuales es factible.



# ***BIBLIOGRAFÍA***

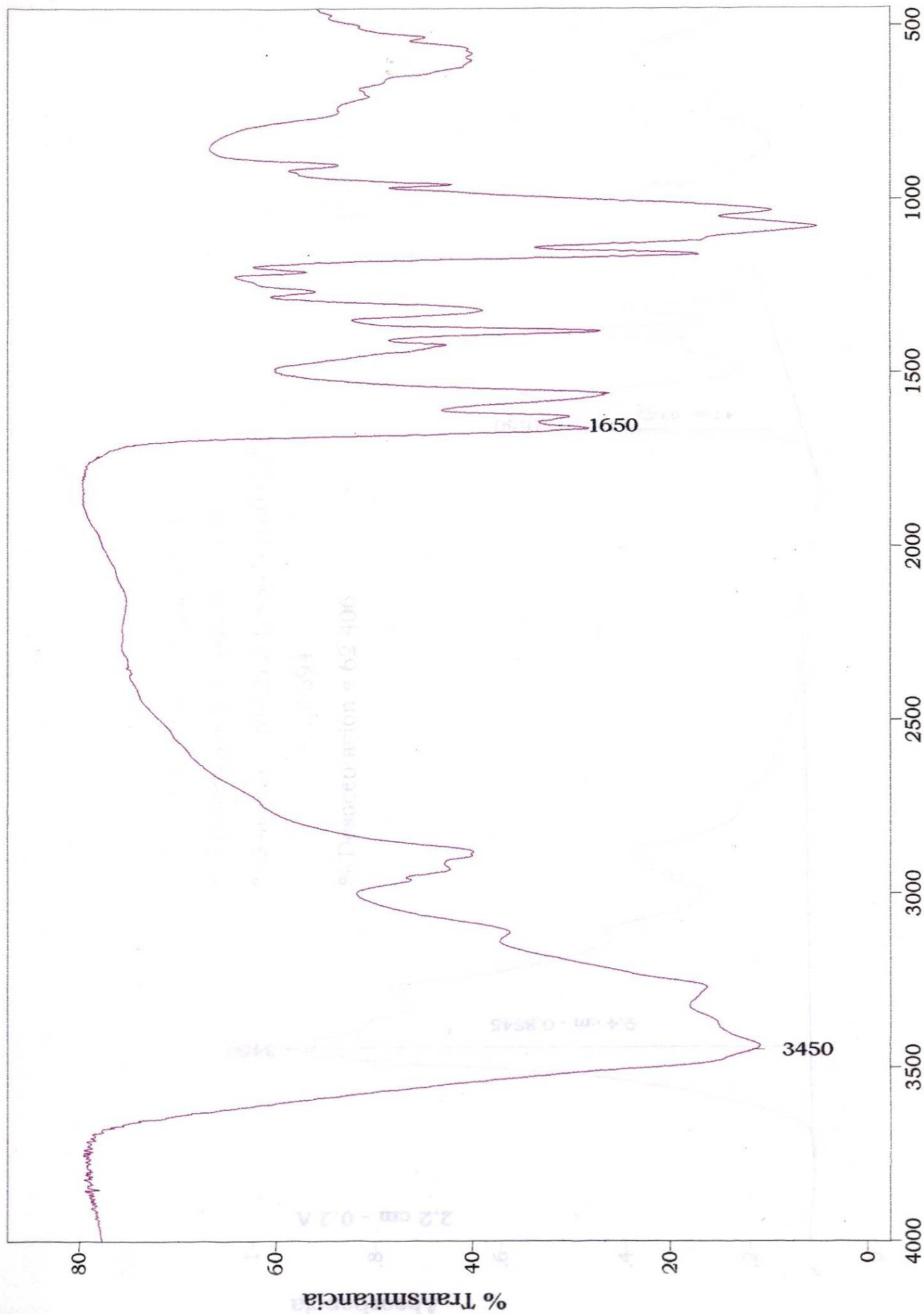
**BIBLIOGRAFÍA**

1. R. A. A. Muzzarelli, *Chitin*, Pergamon of Canada Ltd, Toronto 1978.
2. G. W. Rigby, *Substantially Undergraded Deacetylated Chitin and Process for Producing the Same*, U.S, 1934, Patent 2,040, 879.
3. G. W. Rigby, *Substantially Undergraded Deacetylated Chitin and Process for Producing the Same*, U.S, 1934, Patent 2,040, 880.
4. G. L. Clark, and A. F. Smith, *J. Phys. Chem.*, 1936, 40:863-879.
5. M. F. A. Goosen, *Applications of Chitin and Chitosan*, Technamic Publishing Company, Inc., U.S., 1997.
6. J. Macossay, *Synthesis and Characterization of Water Soluble Chitosan Derivatives*, Tesis Doctoral, Louisiana State University, 1995.
7. T. Tsugita, *Chitin/Chitosan and Their Applications*, in *A Handbook of Chitin and Chitosan*, Japanese Society., Tokyo 1995, Chap. VI. 287-291.
8. L. J. Filar and M. G. Wirick, *Bulk and Solution Properties of Chitosan*, R. A. A. Muzzarelli and E. R. Pariser, eds., Proceedings of the First International Conference on Chitin/Chitosan, M.I.T. Sea Grant Report MITSG 78-7, Cambridge, 1978, 169-180.
9. M. L. Garzón, A. Romero, G. A. James, C. Ramos, *Revista de la Sociedad Química de México*, Vol. 42 N°2, 1998, 71-77.

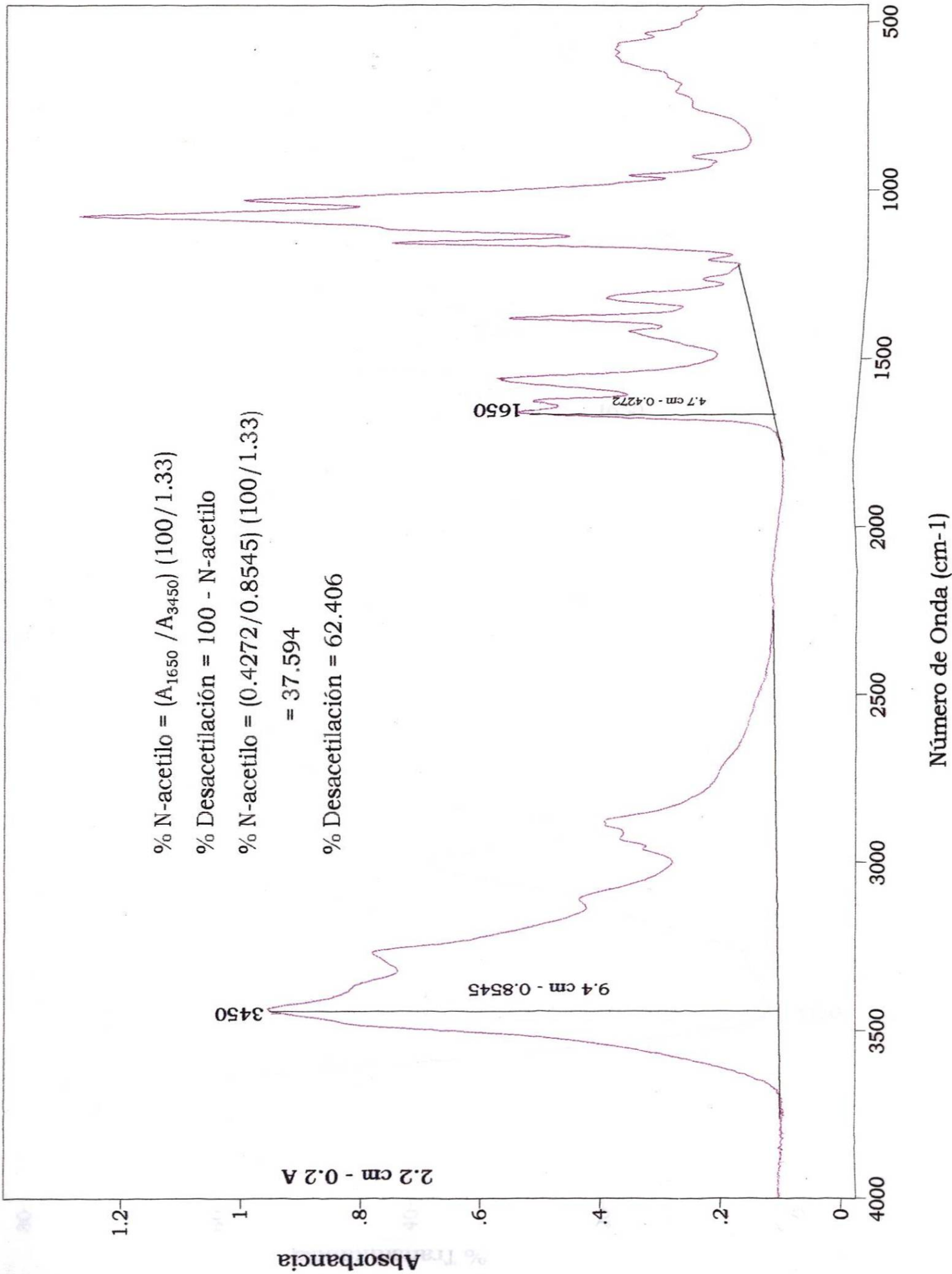
10. Technical Information, Vanson, *Chitin and Chitosan General Properties and Applications*, DuPont, Headers in Chitin Technology, Washington, 1994.
11. J. G. Domszy and G. A. F. Roberts, *Makromol. Chem.*, 1985, 186, 1671-1677.
12. W. Wang, S. Bo, S. Li and W. Qin, *Int. J. Biol. Macromol.*, 1991, 13, 281-285.
13. W. H. Daly, J. Macossay, *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, July-September, 1997, 22-27.
14. H. K. No, Samuel P. Meyer, *J. Aquatic Food Product Technology*, Vol. 4(2), 1995, 28-49.
15. J. C. Alvarado-Monzón, J. A. López Jiménez, L. López Martínez y P. L. López de Alba, *Revista de la Sociedad Química de México A. C.*, Vol. 40 N° 5, 1996, 195-199.
16. I. Blazquez, F. Vicente, and B. Gallo, *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. 33, 1987, 2107-2115.
17. K. Ramachandran Nair and P. Madhavan, *Metal Binding Property of Chitosan from Different Sources*, S. Hirano and S. Tokura, eds., Chitin and Chitosan and the Related Enzymes, The Japanese Society of Chitin and Chitosan, Tottori, 1982, 187-190.
18. R. A. A. Muzzarelli, *Chitin*, Pergamon Press Ltd. New York, 1978, Chap. 6, 207-221.
19. P. A. Sandford and A. Steinnes, *Biomedical Applications of High Purity Chitosan*, in S.W. Shalaby, C. L. McCormick and G. B. Butler, eds., Water-Soluble Polymers, Synthesis, Solution Properties and Applications, American Chemical Society, Washington, D.C., 1991, Chap. 8, 430-445.

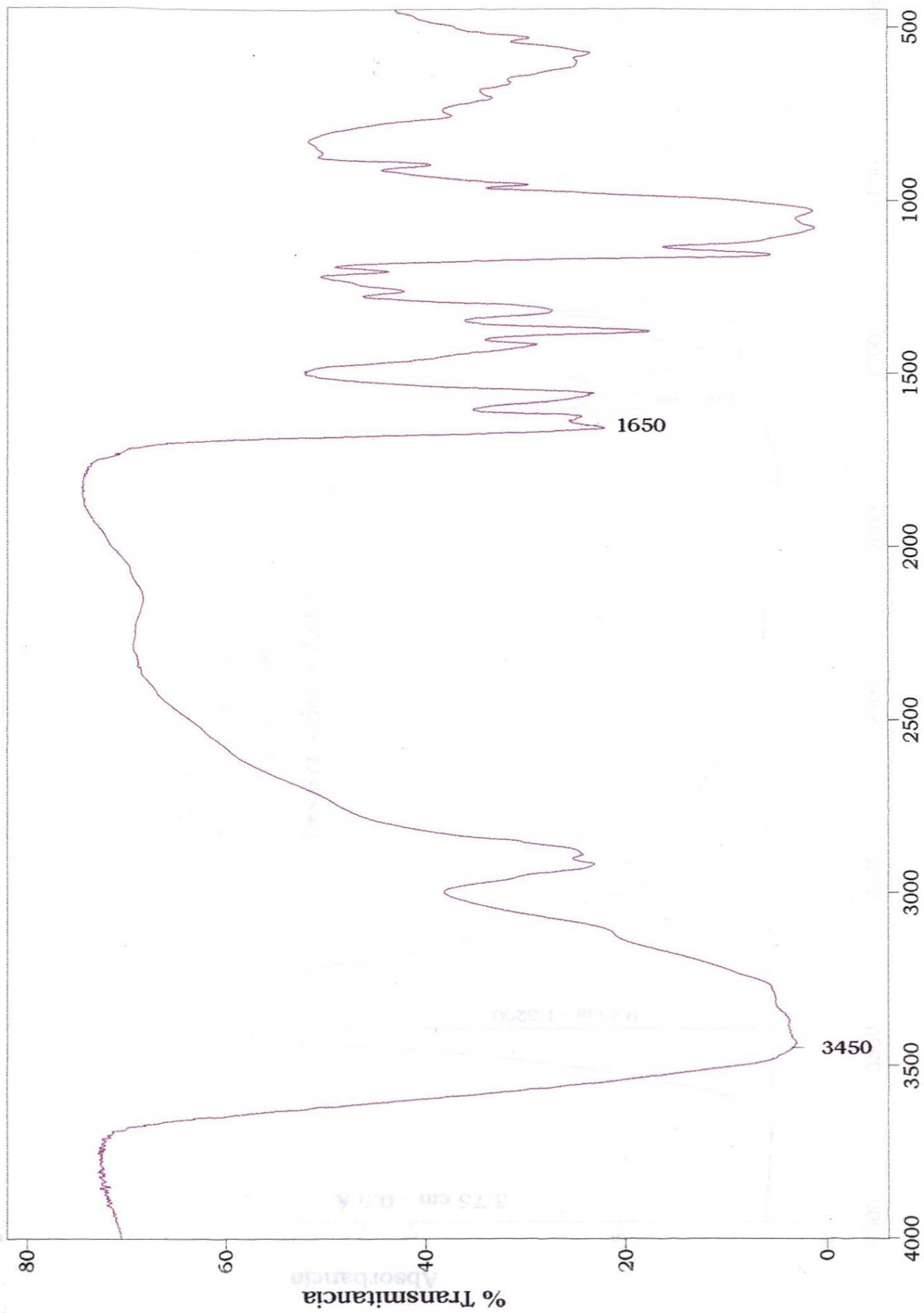
- 20.K. Kurita, T. Sannon and T. Iwakura, *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. 23, 1979, 511-515.
- 21.N. E. Chávez Corona, *Evaluación de la Calidad del Agua y Sedimento de la Presa el Cuchillo*, Desarrollo de Proyectos, F.C.Q., U.A.N.L, Febrero–Julio, 1998.
- 22.L. Y. Ureña Hernández, *Aislamiento y Caracterización de Quitosan*, Desarrollo de Proyectos, F.C.Q., U.A.N.L, Agosto-Febrero, 1998.
- 23.C. D. Hendrix, *Empirical Optimization in Research and Development*, Internal Report for Union Cabide C.O, South Charleston, West Sur Virginia, USA, 1970.
- 24.J. Macossay, *Determinación de Pesos Moleculares*, Manual de Polímeros, 7° semestre carrera de Lic. en Química Industrial, F.C.Q., U.A.N.L, 1997.
- 25.R. Y. Peña Cantú, *Aislamiento de Quitosan y Derivación con Acrilamida*, Desarrollo de Proyectos, F.C.Q., U.A.N.L, Febrero-Julio, 1997.
- 26.S. V. Pérez, *Química de las Disoluciones Diagramas y Cálculos Gráficos*, Editorial Alhambra, España, 1979, 2014-205.
- 27.J. M. Alfaro Barbosa, *Charakterisierung der Schwermetall- und Radionuklidbelastung der Wichtigsten Fließgewässer des Sächsischen Erzgebirges*, Tesis Doctoral, Hamburg, Alemania, 1995.
- 28.Cátalogo Merck, *Reactivos Productos Químicos, Diagnóstica*, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania, 1996.

***APENDICE I***  
***Espectros de Infrarrojo y***  
***Cálculo de % de Desacetilación***

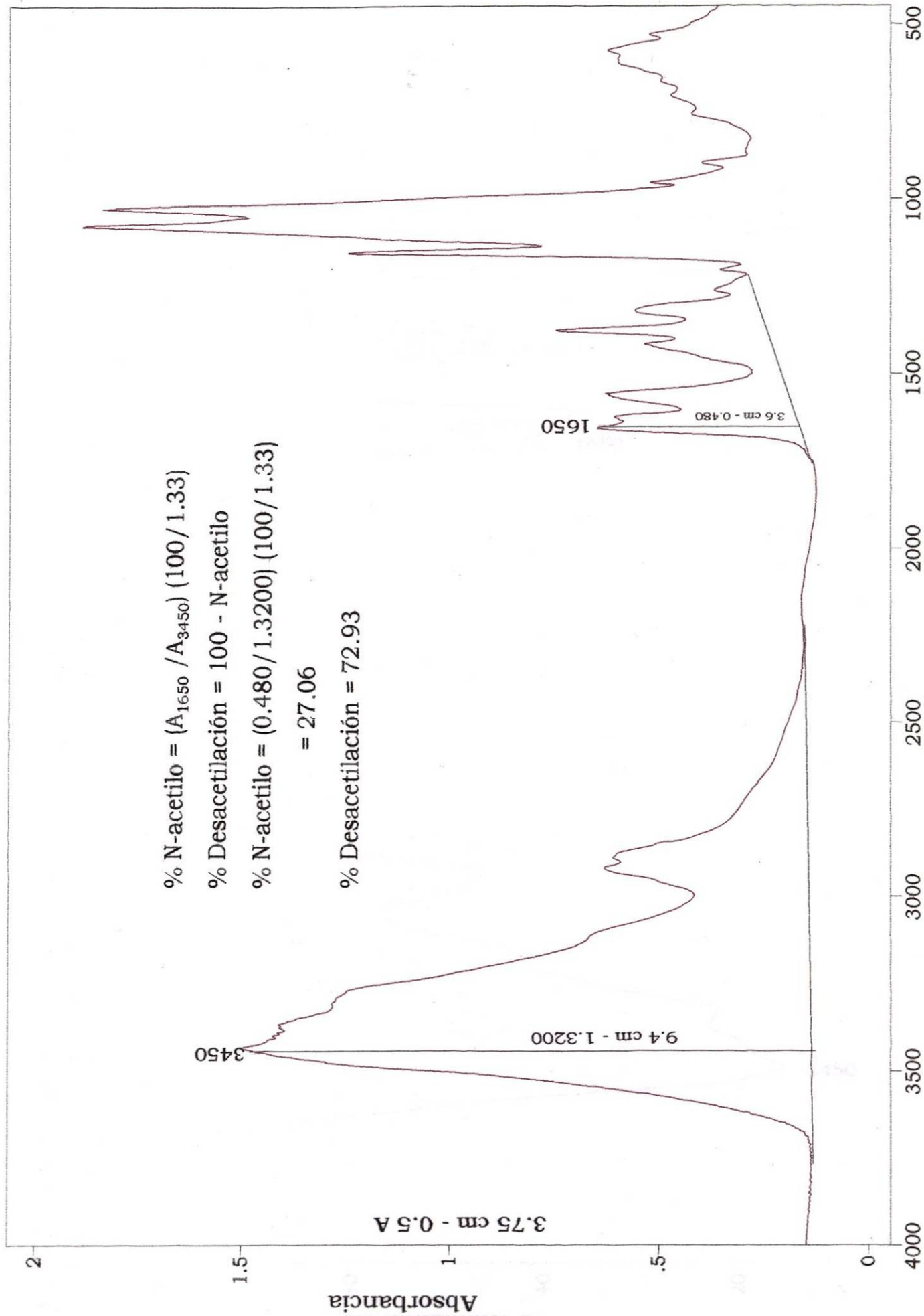


Número de Onda (cm-1)

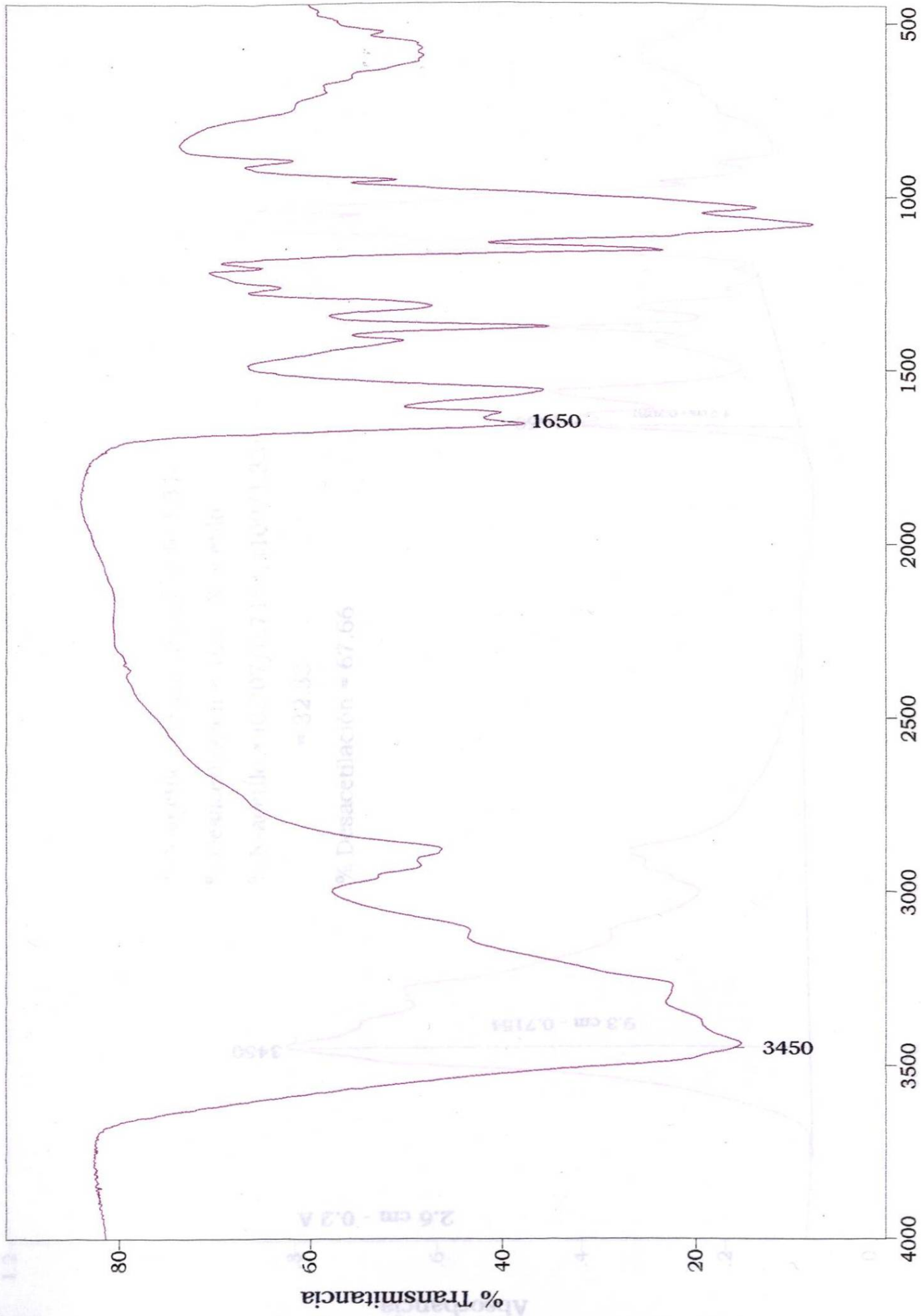




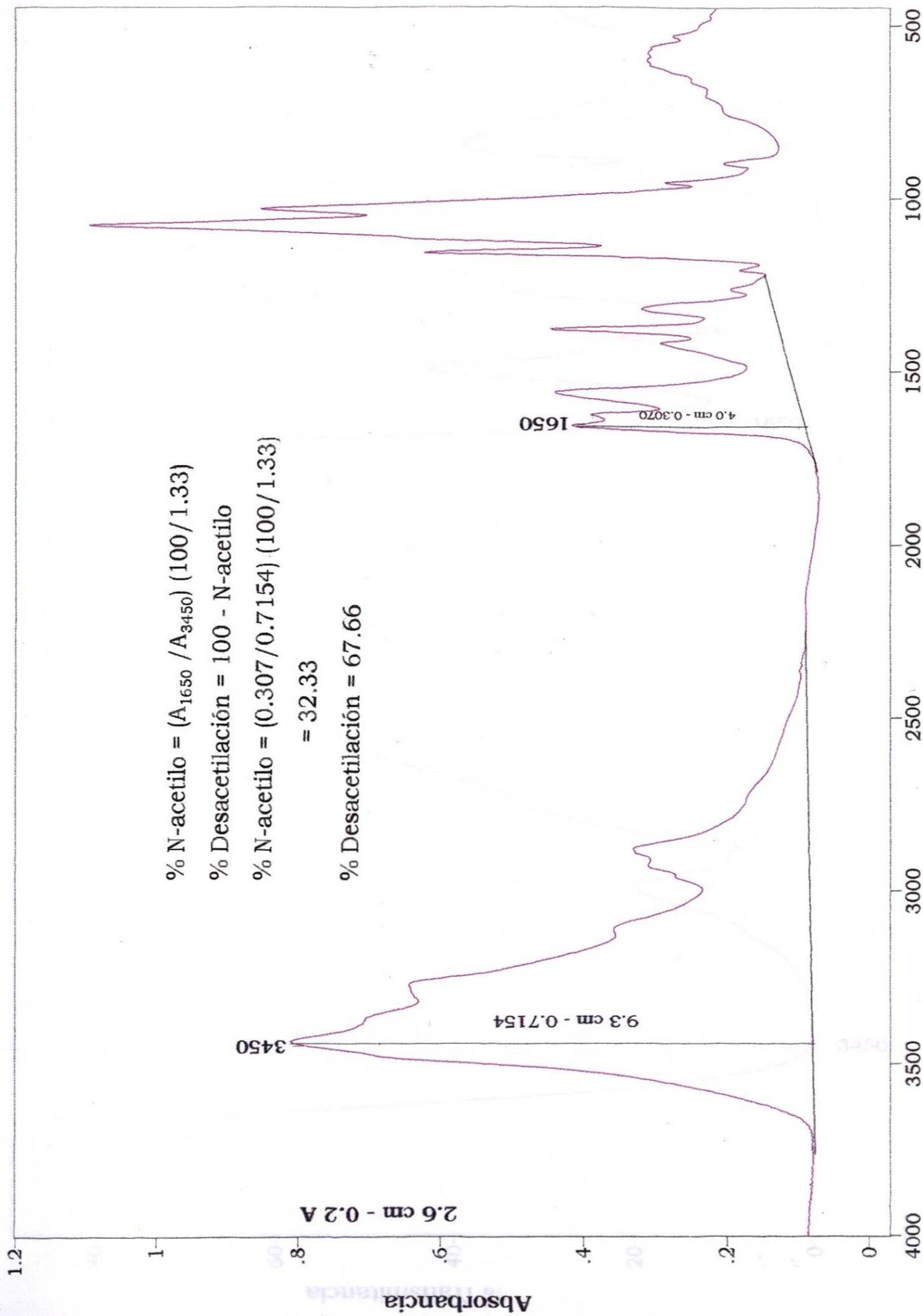




$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$   
 $\% \text{ Desacetilación} = 100 - \text{N-acetilo}$   
 $\% \text{ N-acetilo} = (0.480 / 1.3200) (100 / 1.33)$   
 $= 27.06$   
 $\% \text{ Desacetilación} = 72.93$

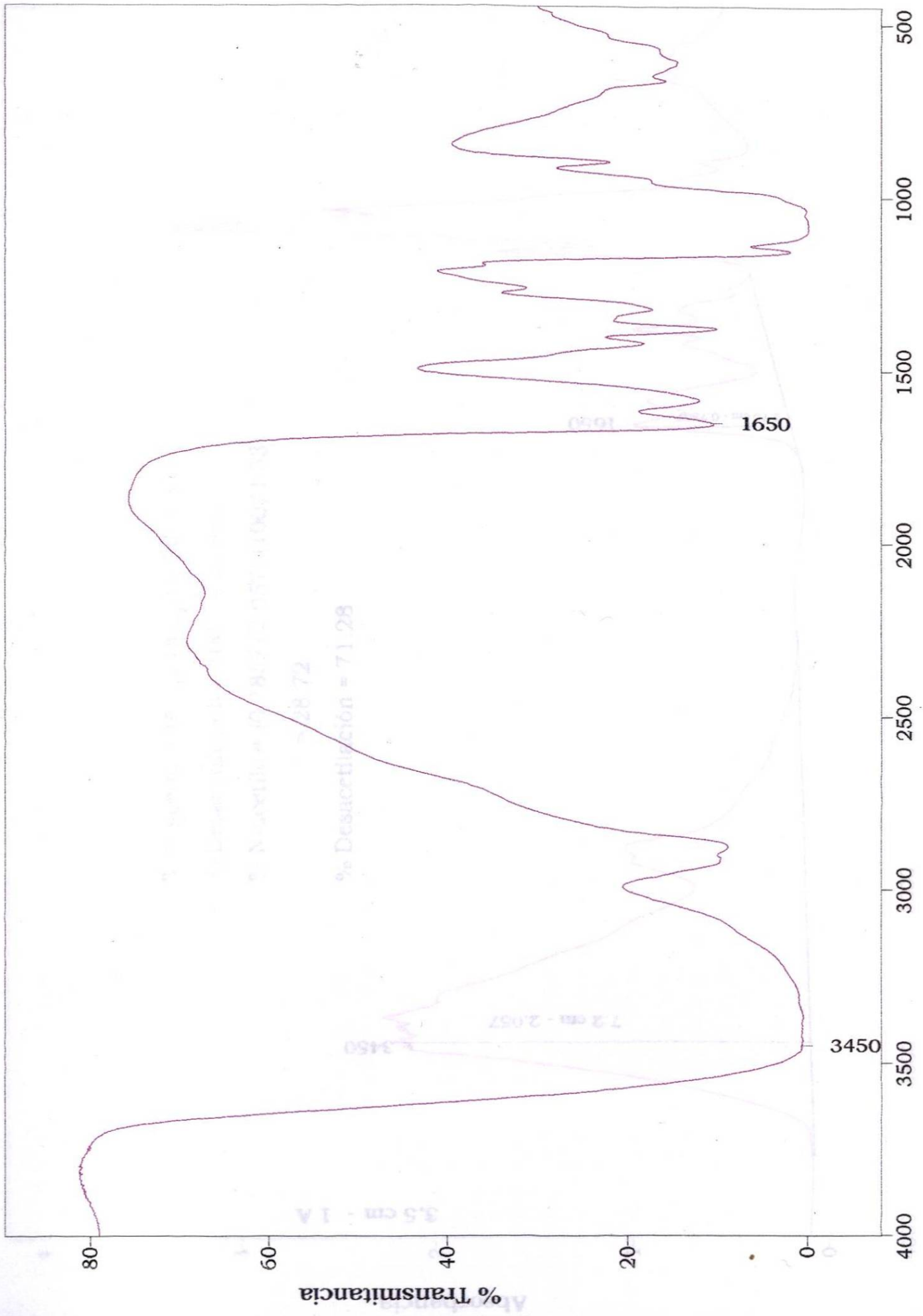


Número de Onda (cm-1)



% N-acetilo =  $(A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$   
 % Desacetilación = 100 - N-acetilo  
 % N-acetilo =  $(0.307 / 0.7154) (100 / 1.33)$   
                   = 32.33  
 % Desacetilación = 67.66

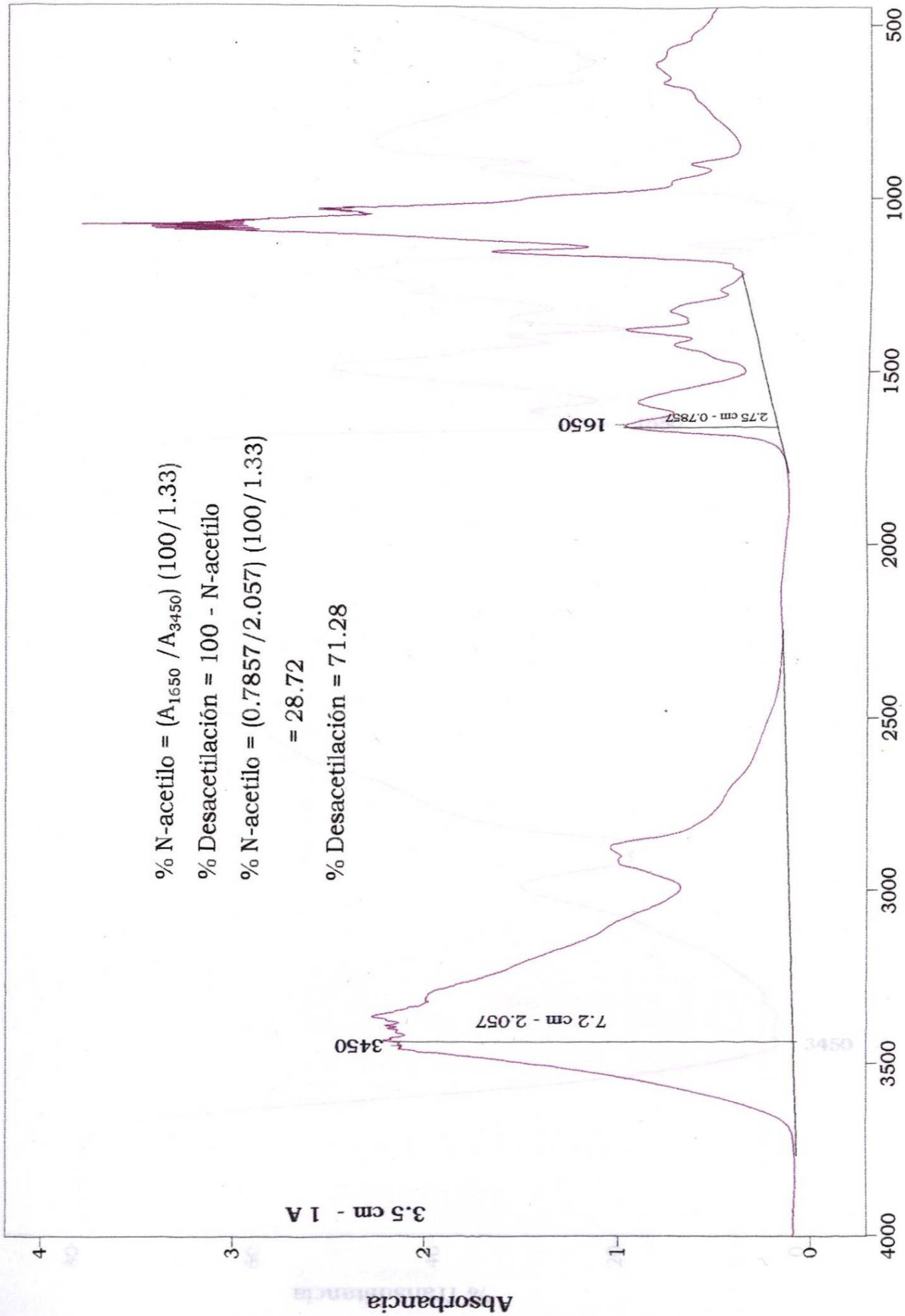
Número de Onda (cm-1)



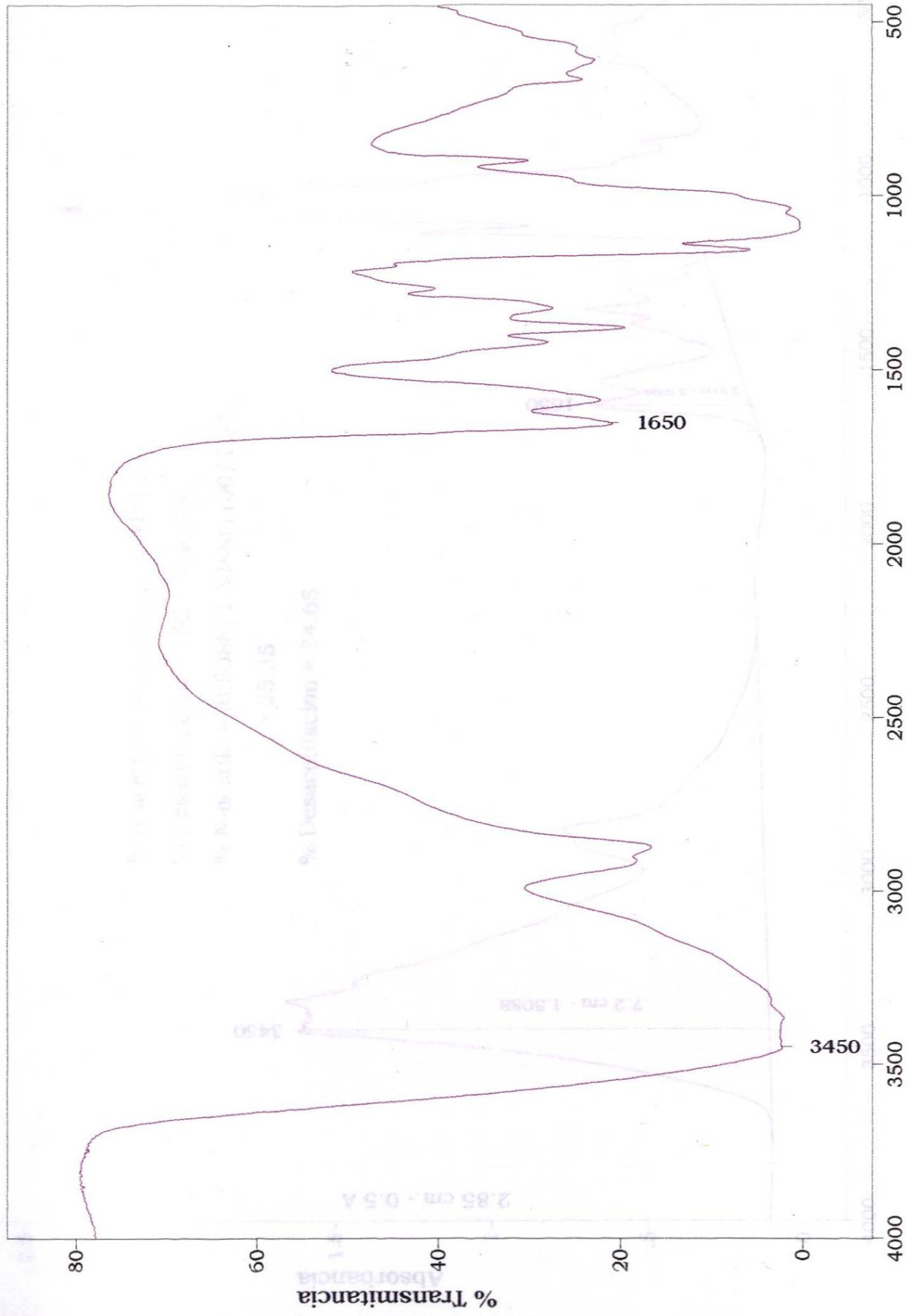
Número de Onda (cm-1)

01-04-98 7:03 PM Res=4 cm-1

Experimento 2A

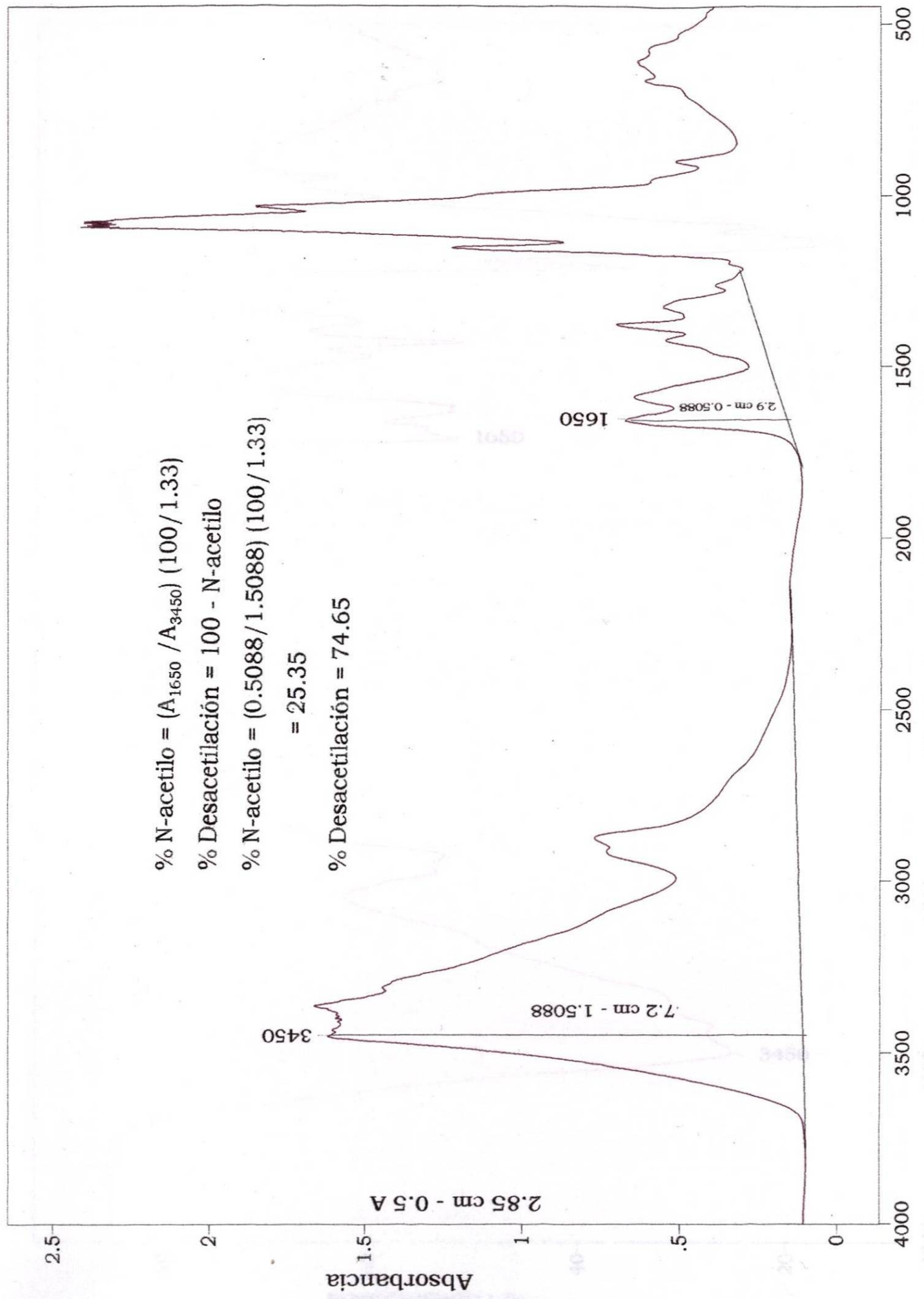


Número de Onda (cm-1)



Número de Onda (cm-1)  
Número de Onda (cm-1)

01-04-98 9:05 PM Res=4 cm-1



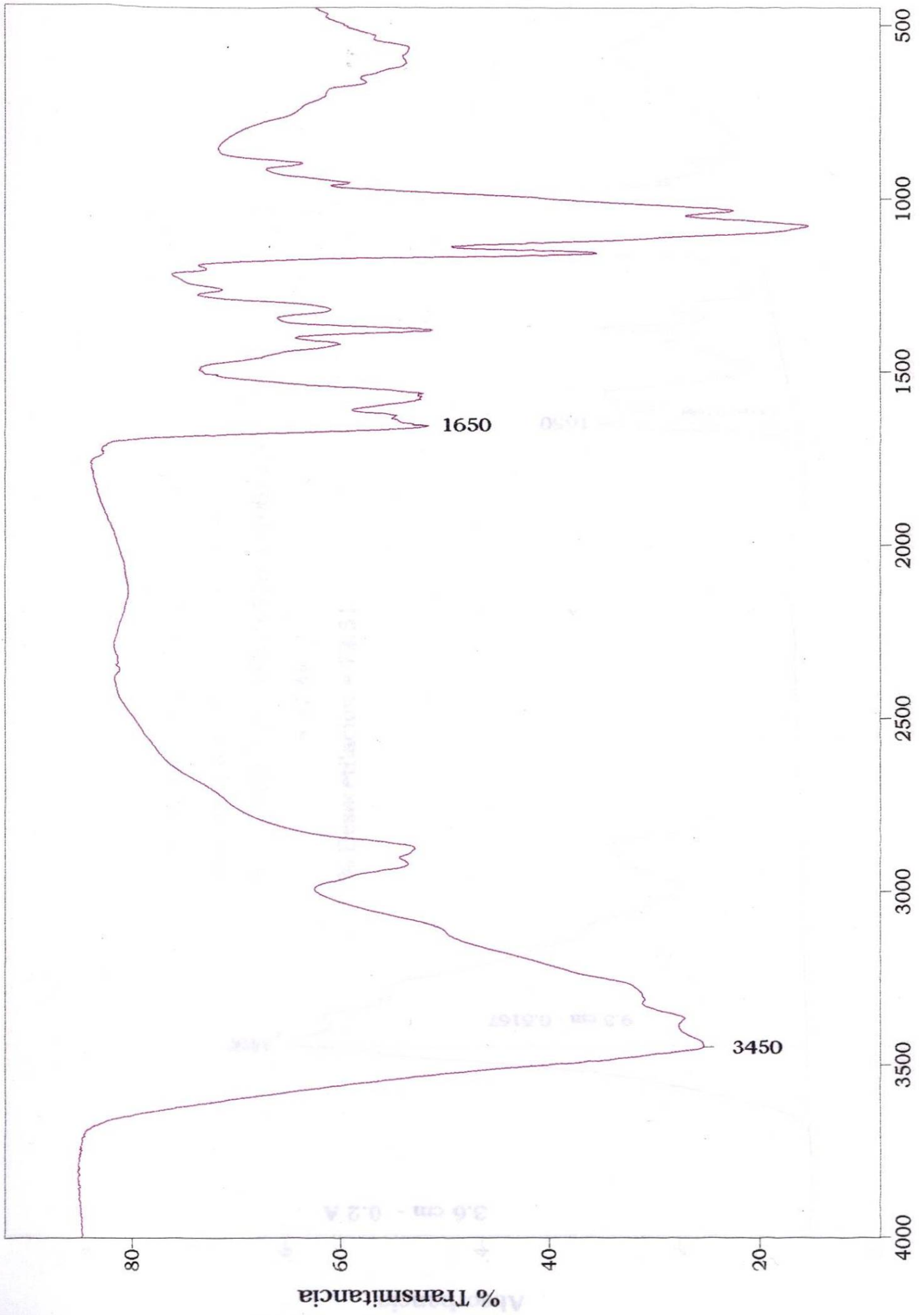
% N-acetilo =  $(A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$

% Desacetilación = 100 - N-acetilo

% N-acetilo =  $(0.5088 / 1.5088) (100 / 1.33)$   
 = 25.35

% Desacetilación = 74.65

Número de Onda (cm-1)

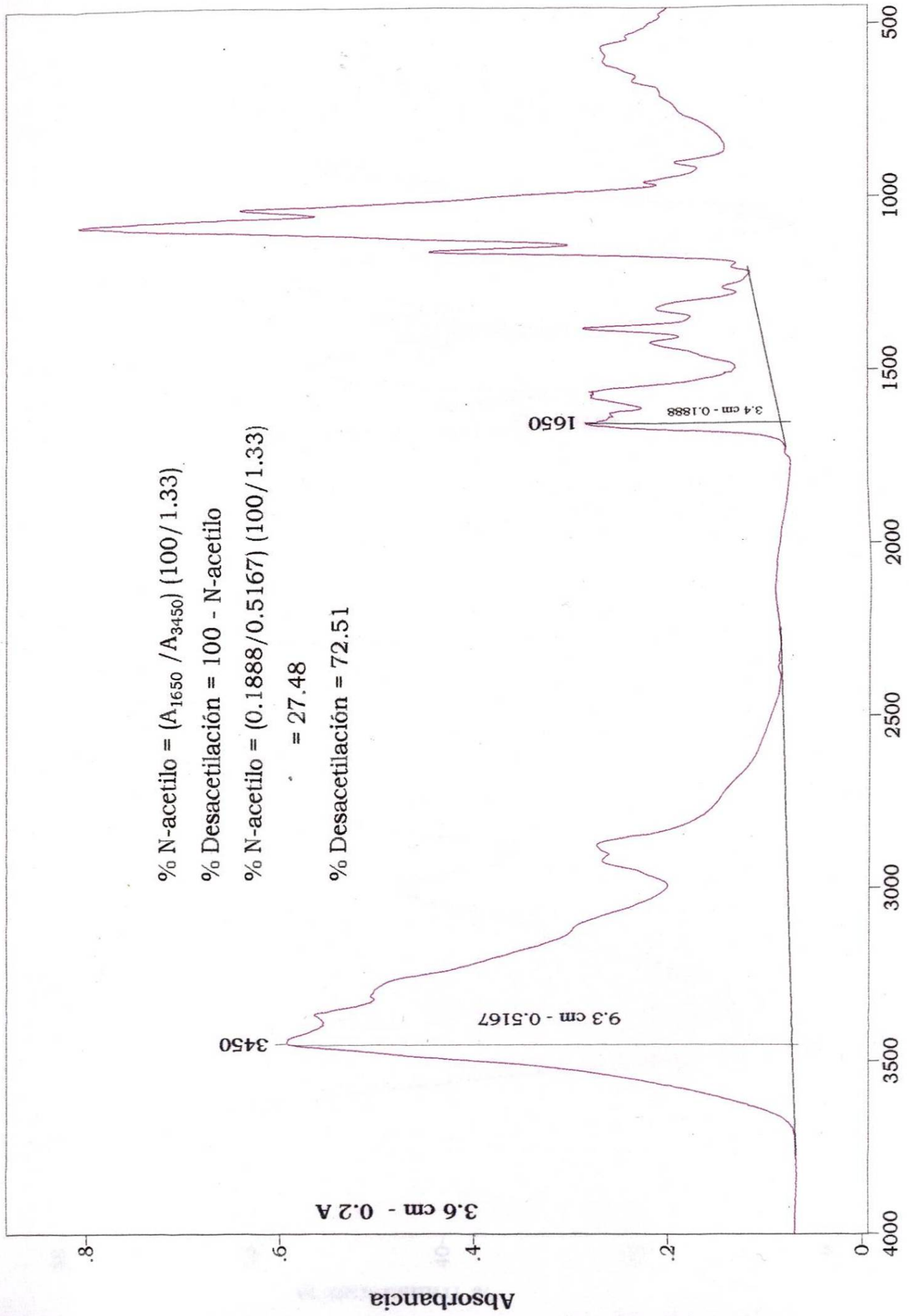


Número de Onda (cm-1)

01-04-98 7:09 PM Res=4 cm-1

Experimento 2C





$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$

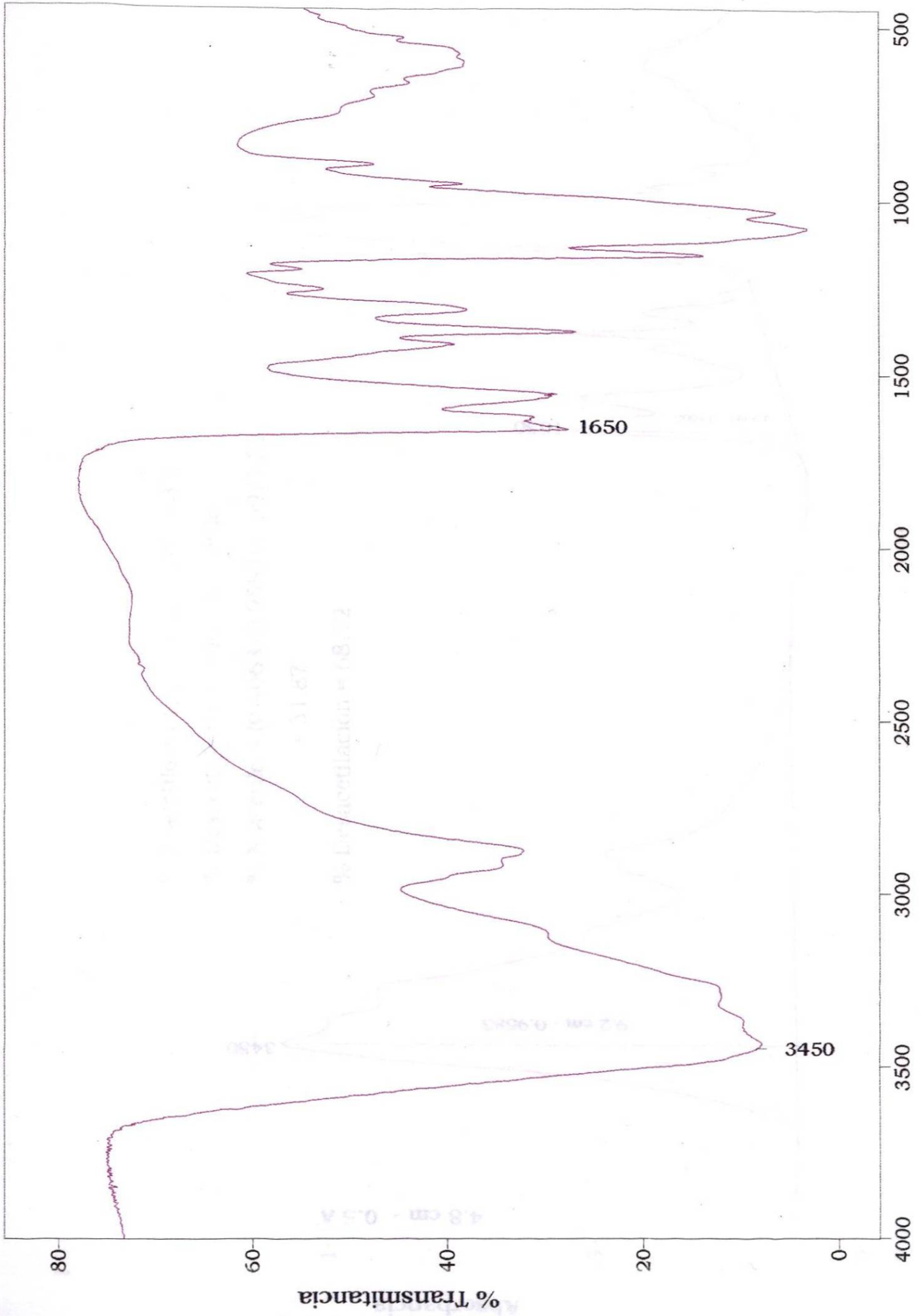
$\% \text{ Desacetilación} = 100 - \text{N-acetilo}$

$\% \text{ N-acetilo} = (0.1888 / 0.5167) (100 / 1.33)$

$= 27.48$

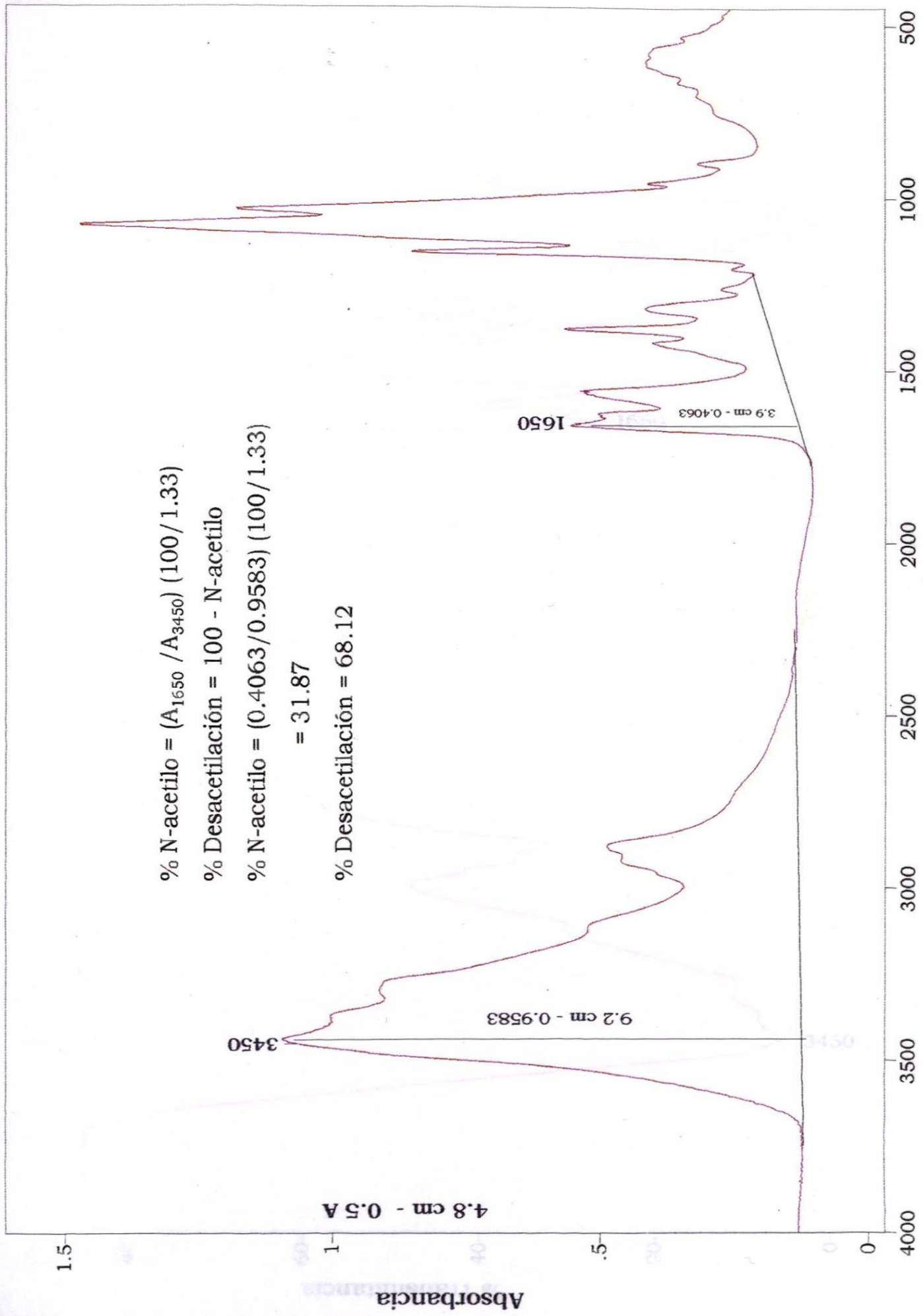
$\% \text{ Desacetilación} = 72.51$

Número de Onda (cm-1)



Número de Onda (cm-1)

01-04-98 9:20 PM Res=4 cm-1



$$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$$

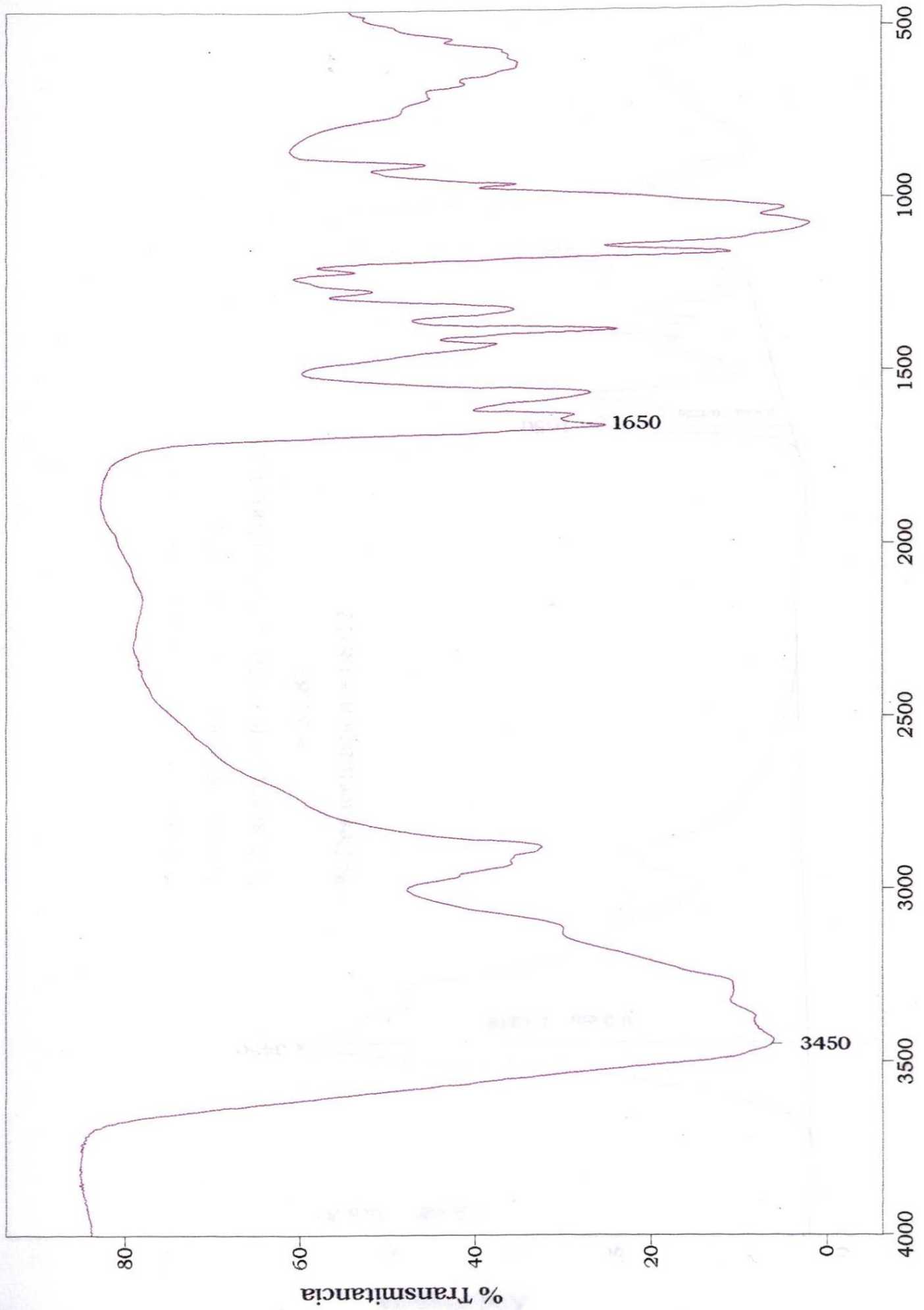
$$\% \text{ Desacetilación} = 100 - \text{N-acetilo}$$

$$\% \text{ N-acetilo} = (0.4063 / 0.9583) (100 / 1.33)$$

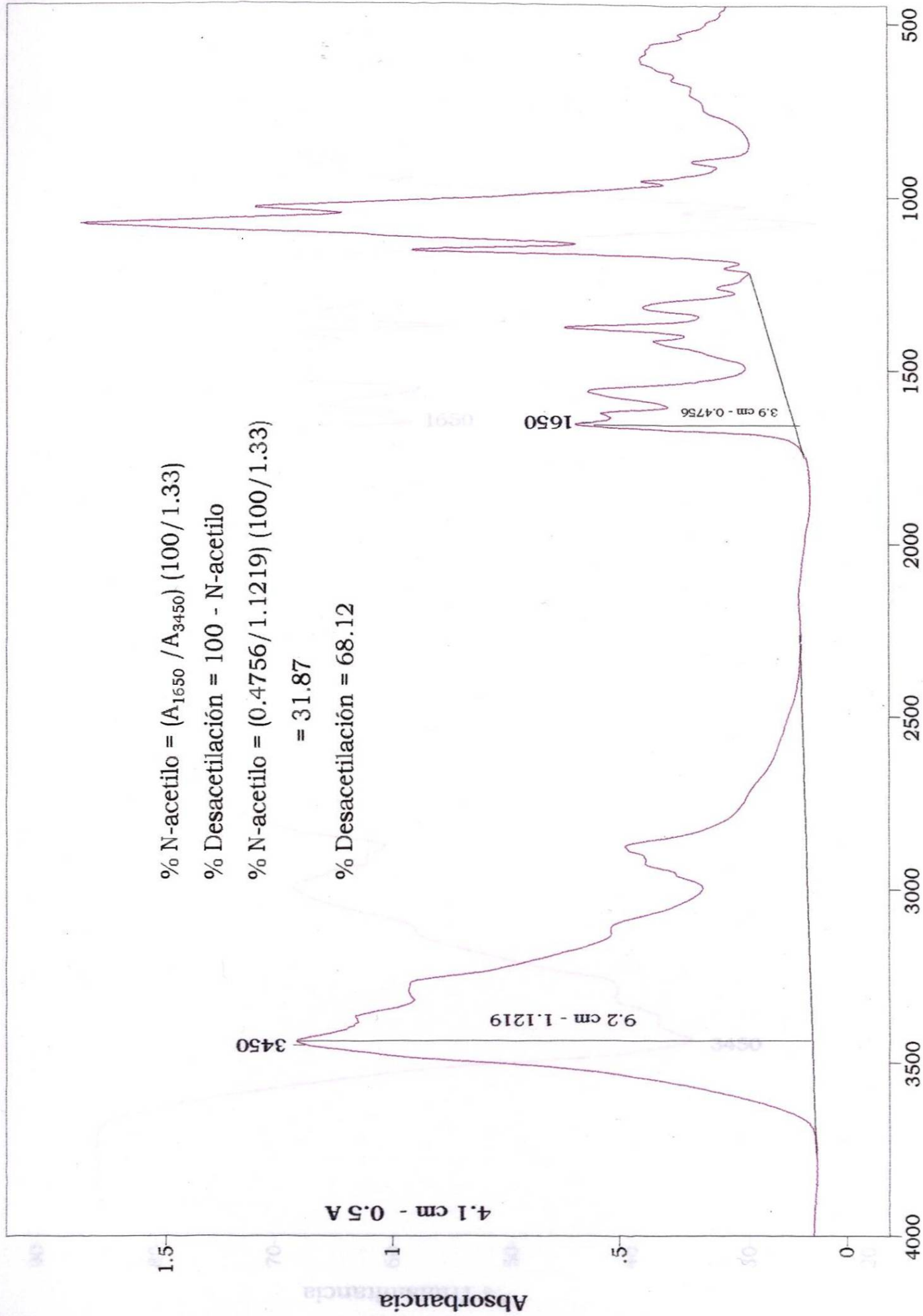
$$= 31.87$$

$$\% \text{ Desacetilación} = 68.12$$

Número de Onda (cm-1)



Número de Onda (cm-1)



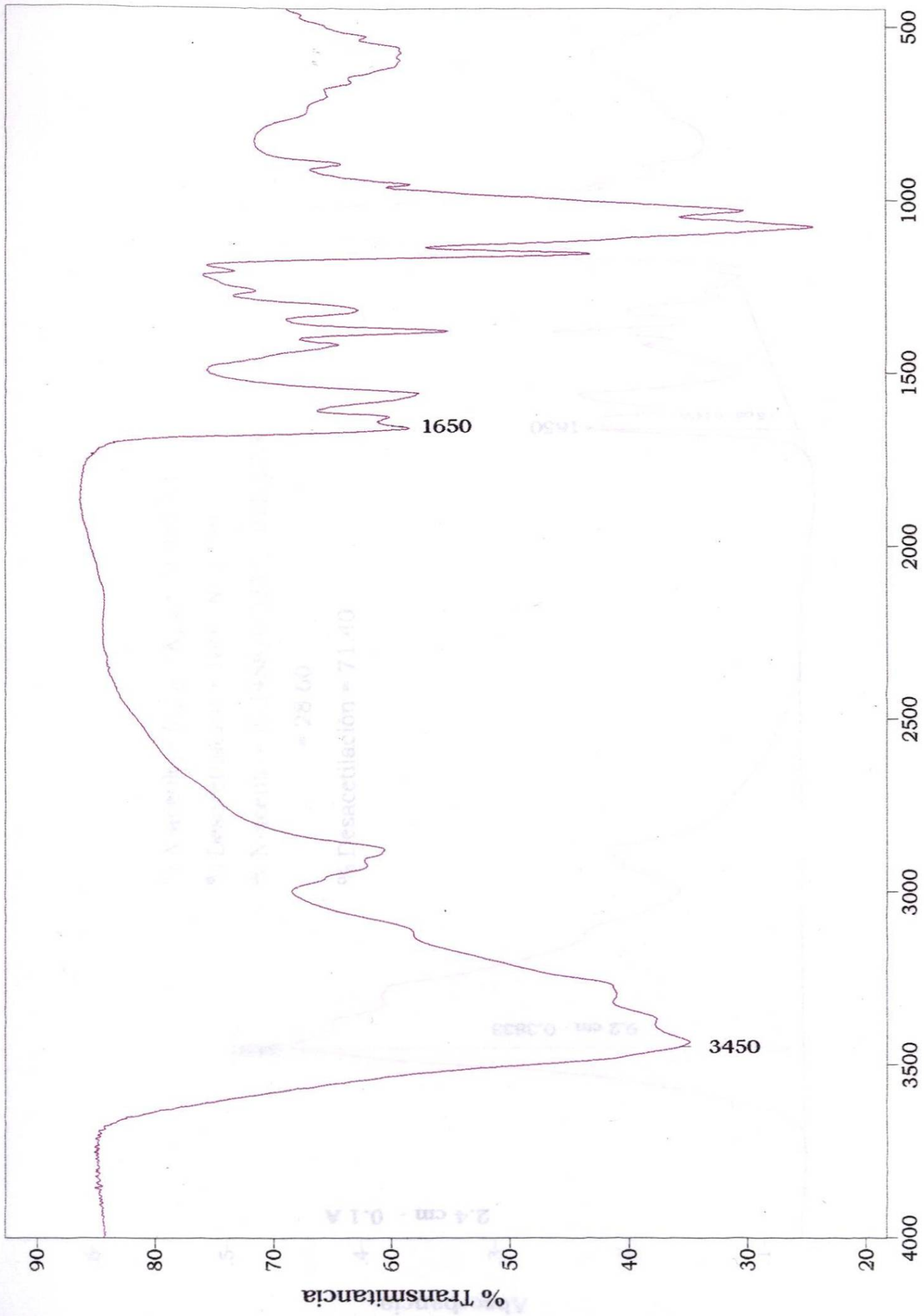
% N-acetilo =  $(A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$

% Desacetilación = 100 - N-acetilo

% N-acetilo =  $(0.4756 / 1.1219) (100 / 1.33)$   
 = 31.87

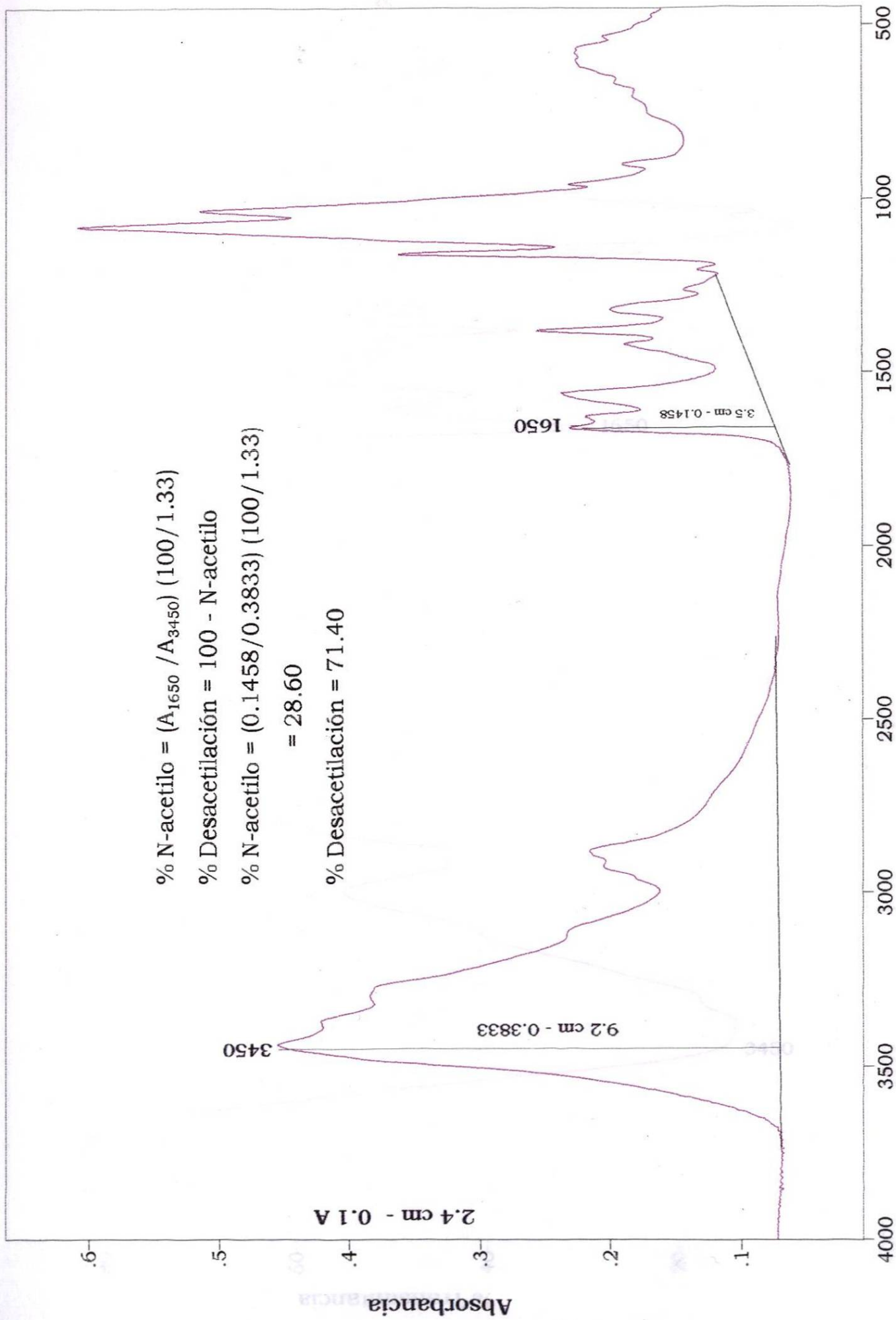
% Desacetilación = 68.12

Número de Onda (cm-1)



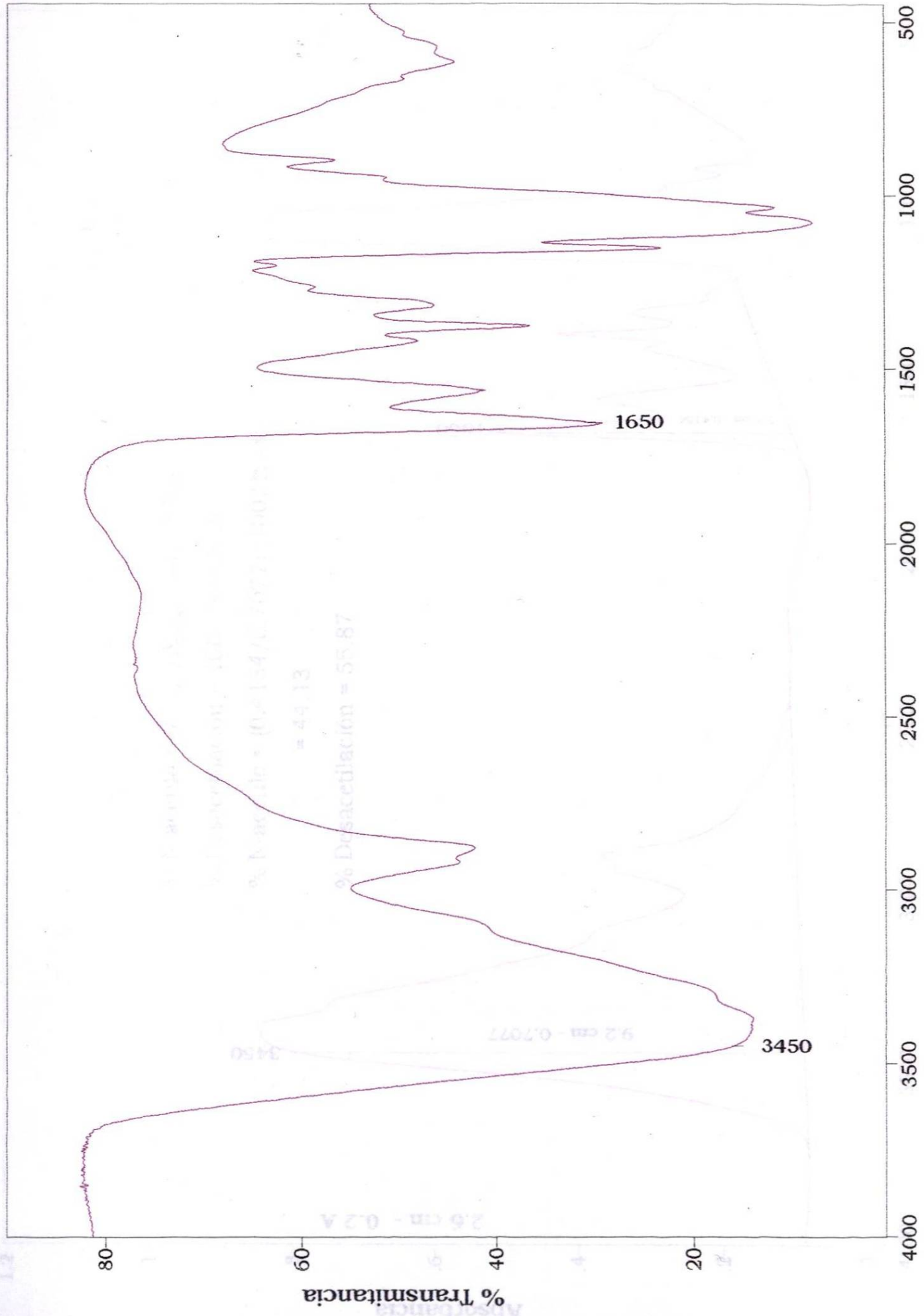
Número de Onda (cm-1)

01-04-98 7:18 PM Res=4 cm-1



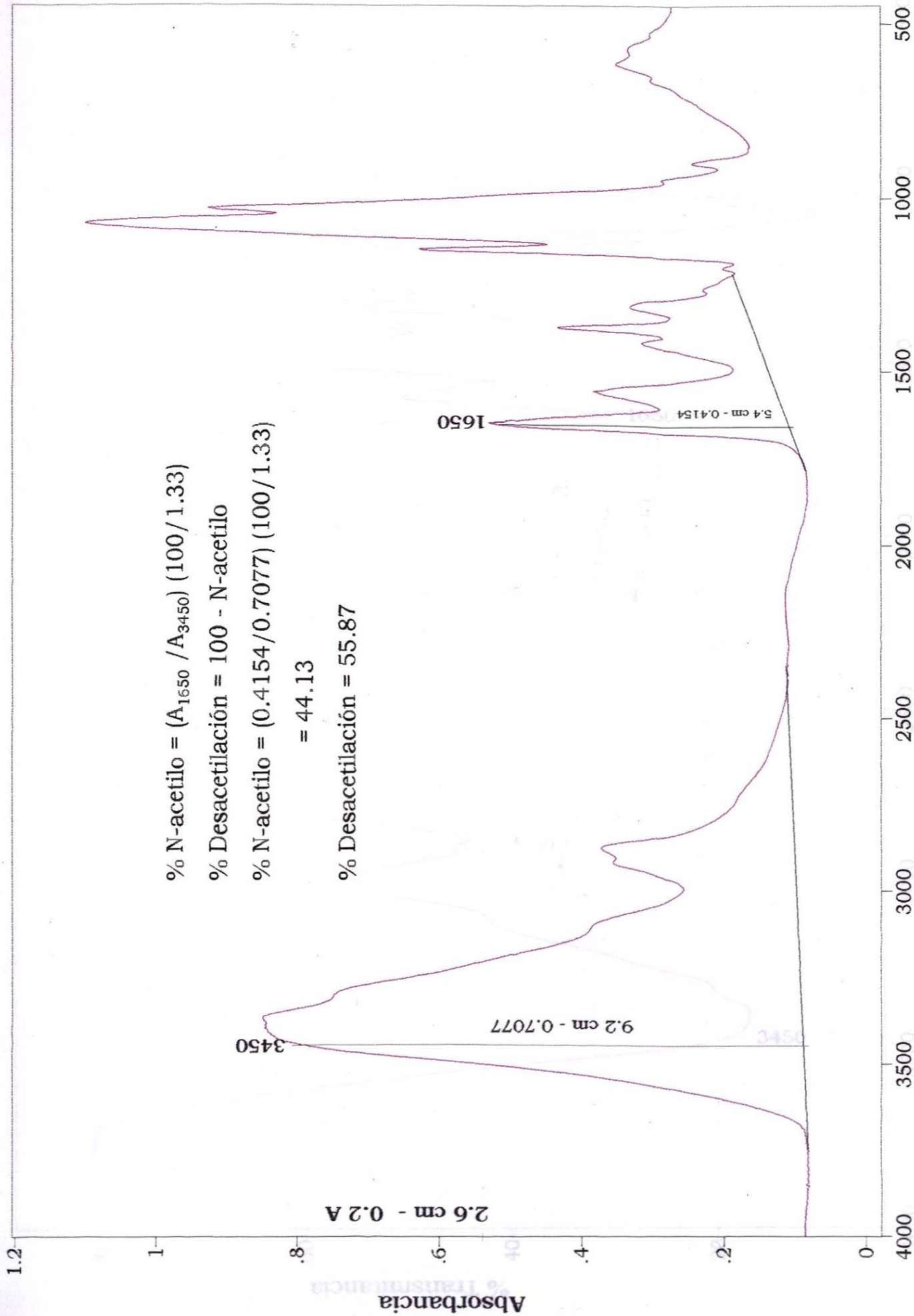
$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$   
 $\% \text{ Desacetilación} = 100 - \text{N-acetilo}$   
 $\% \text{ N-acetilo} = (0.1458 / 0.3833) (100 / 1.33)$   
 $= 28.60$   
 $\% \text{ Desacetilación} = 71.40$

Número de Onda (cm-1)



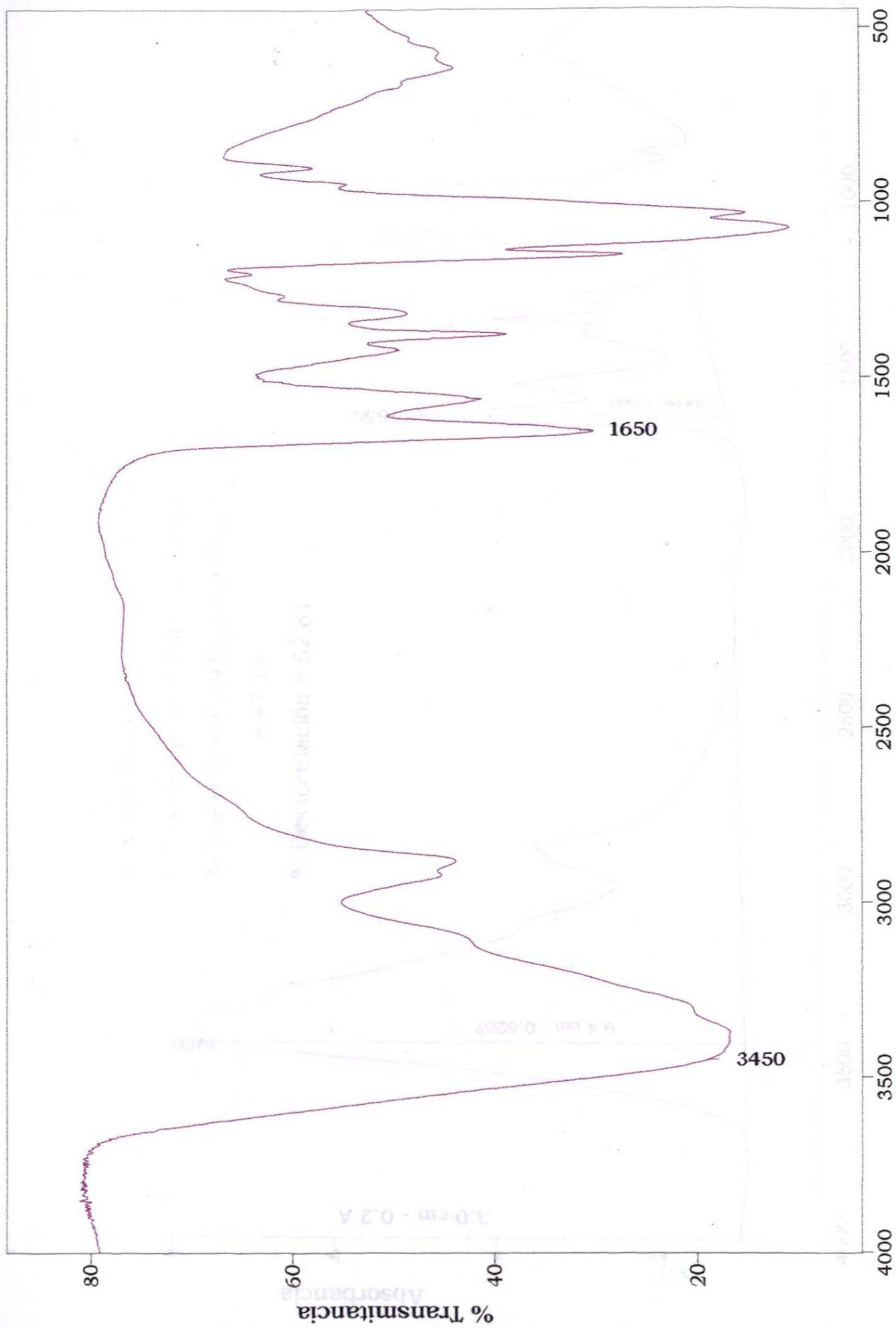
Número de Onda (cm-1)



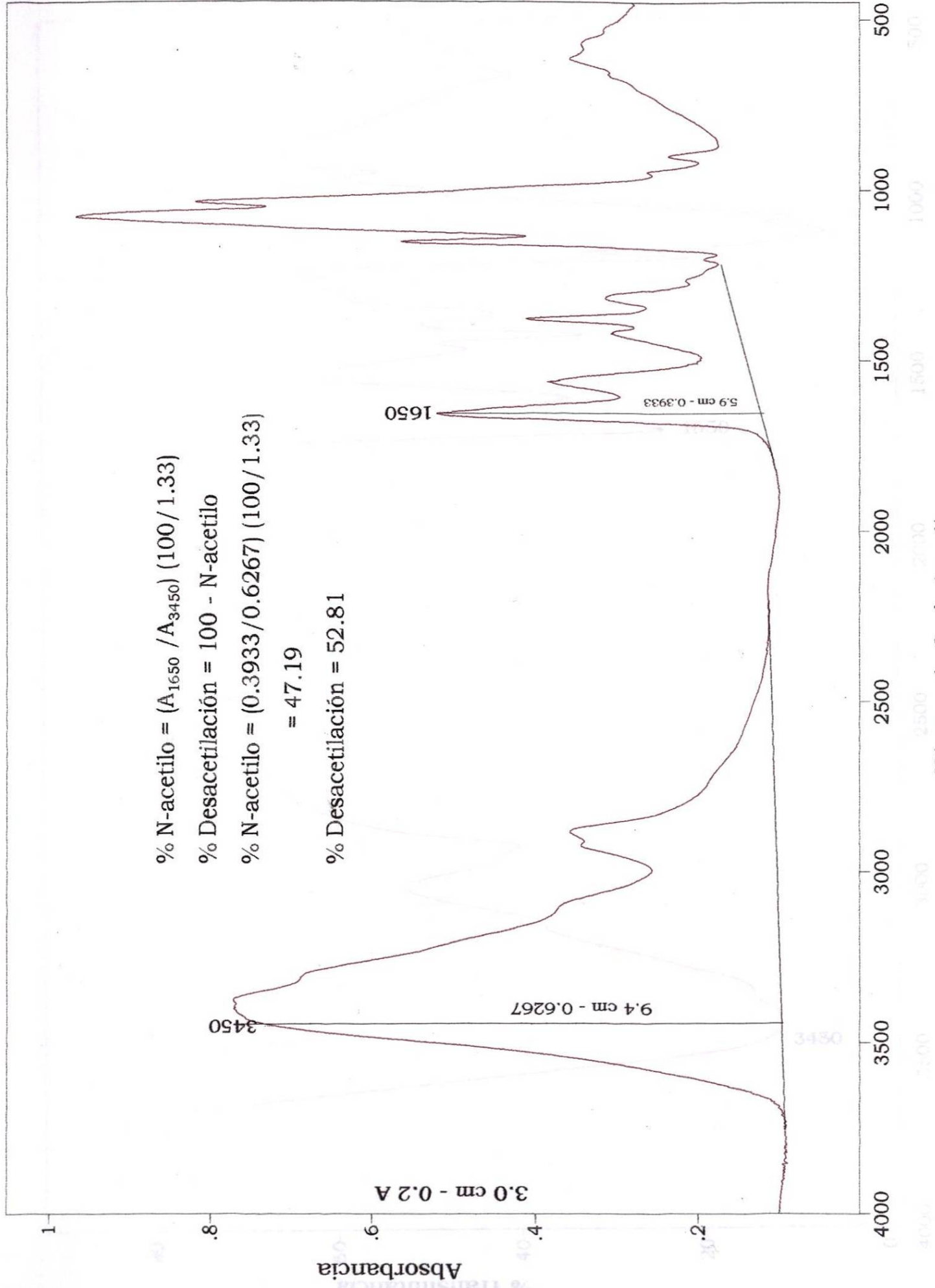


$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$   
 $\% \text{ Desacetilación} = 100 - \text{N-acetilo}$   
 $\% \text{ N-acetilo} = (0.4154 / 0.7077) (100 / 1.33)$   
 $= 44.13$   
 $\% \text{ Desacetilación} = 55.87$

Número de Onda (cm-1)



Número de Onda (cm-1)

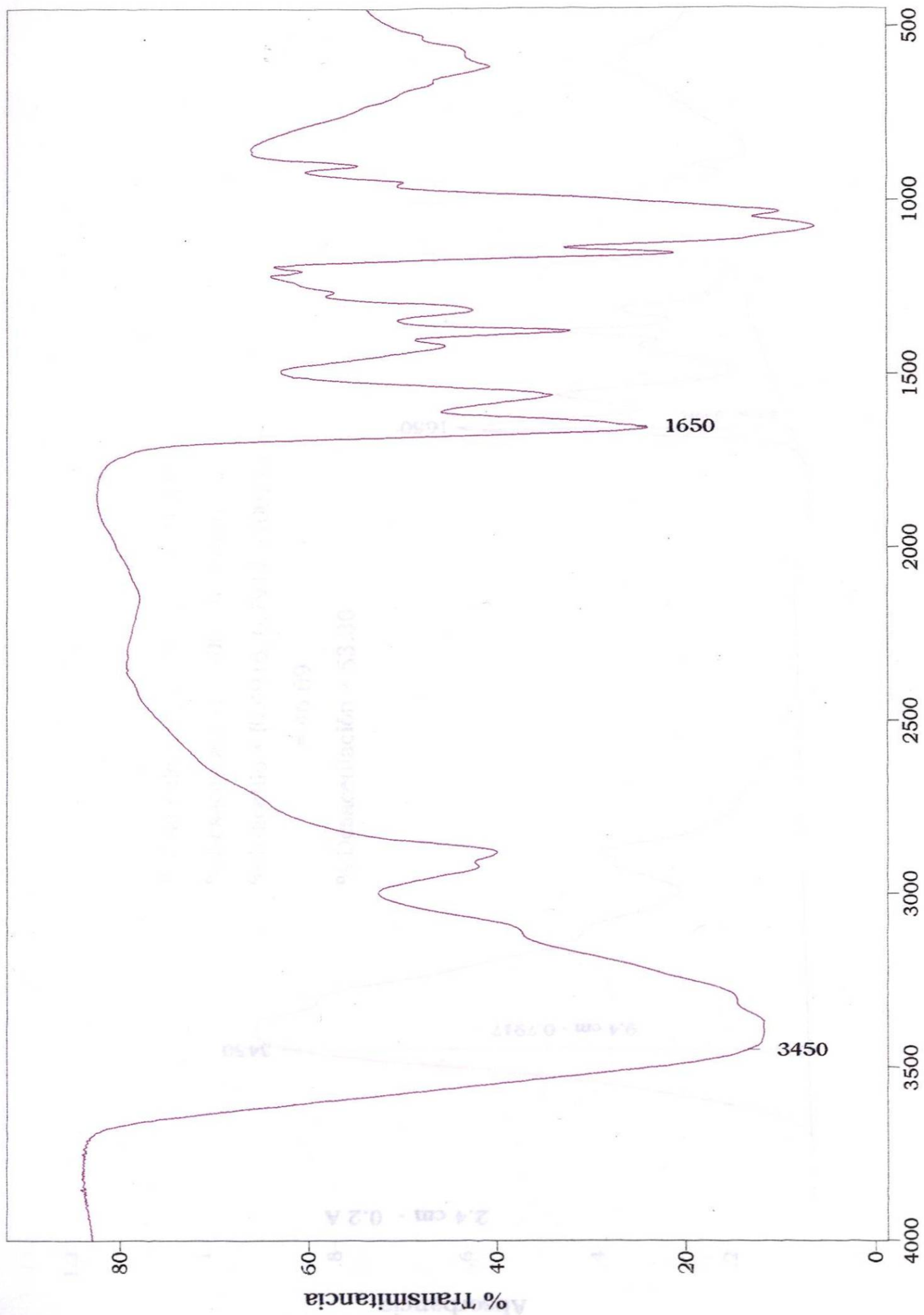


% N-acetilo =  $(A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$

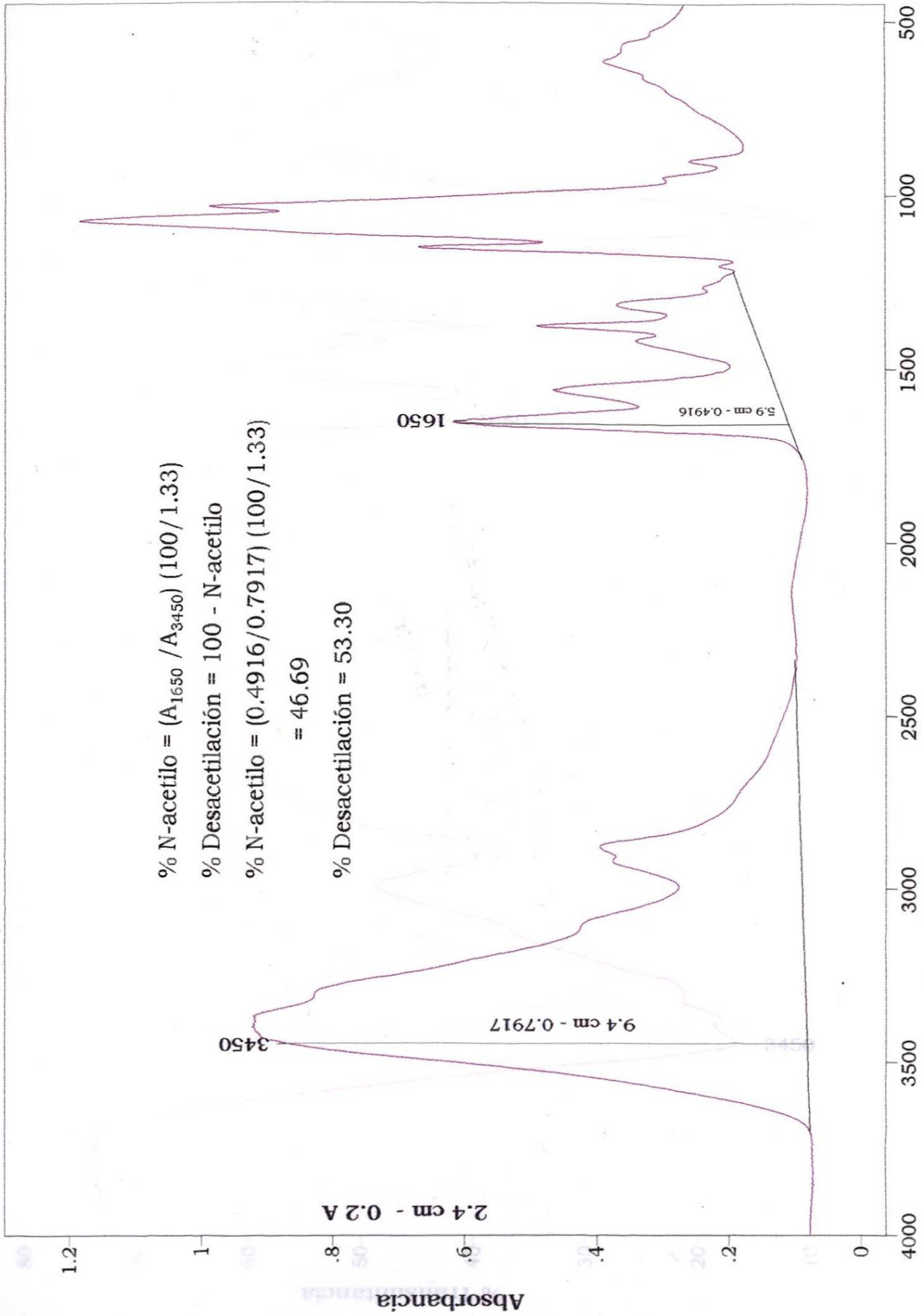
% Desacetilación = 100 - N-acetilo

% N-acetilo =  $(0.3933 / 0.6267) (100 / 1.33)$   
 = 47.19

% Desacetilación = 52.81

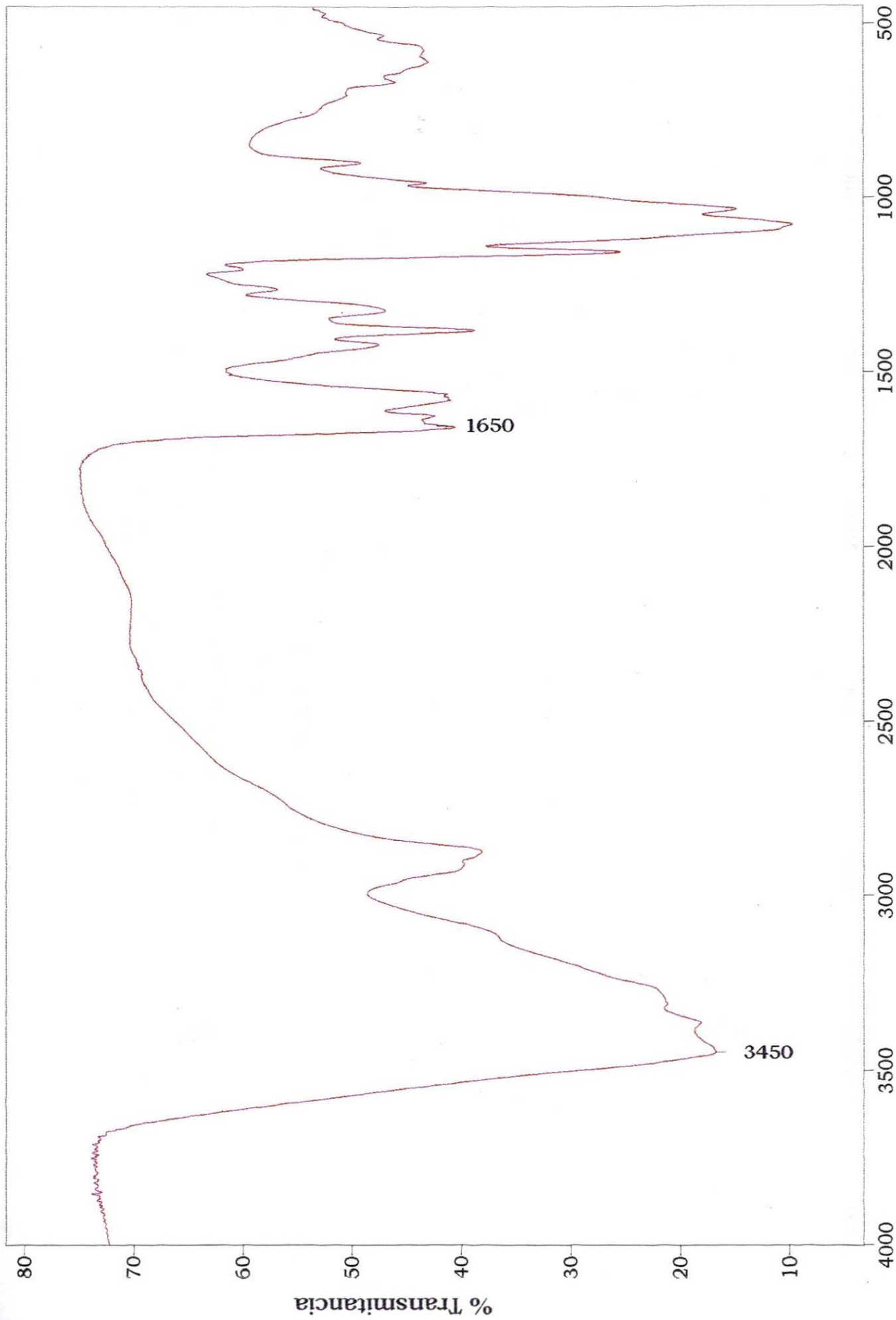


Número de Onda (cm-1)



Número de Onda (cm-1)

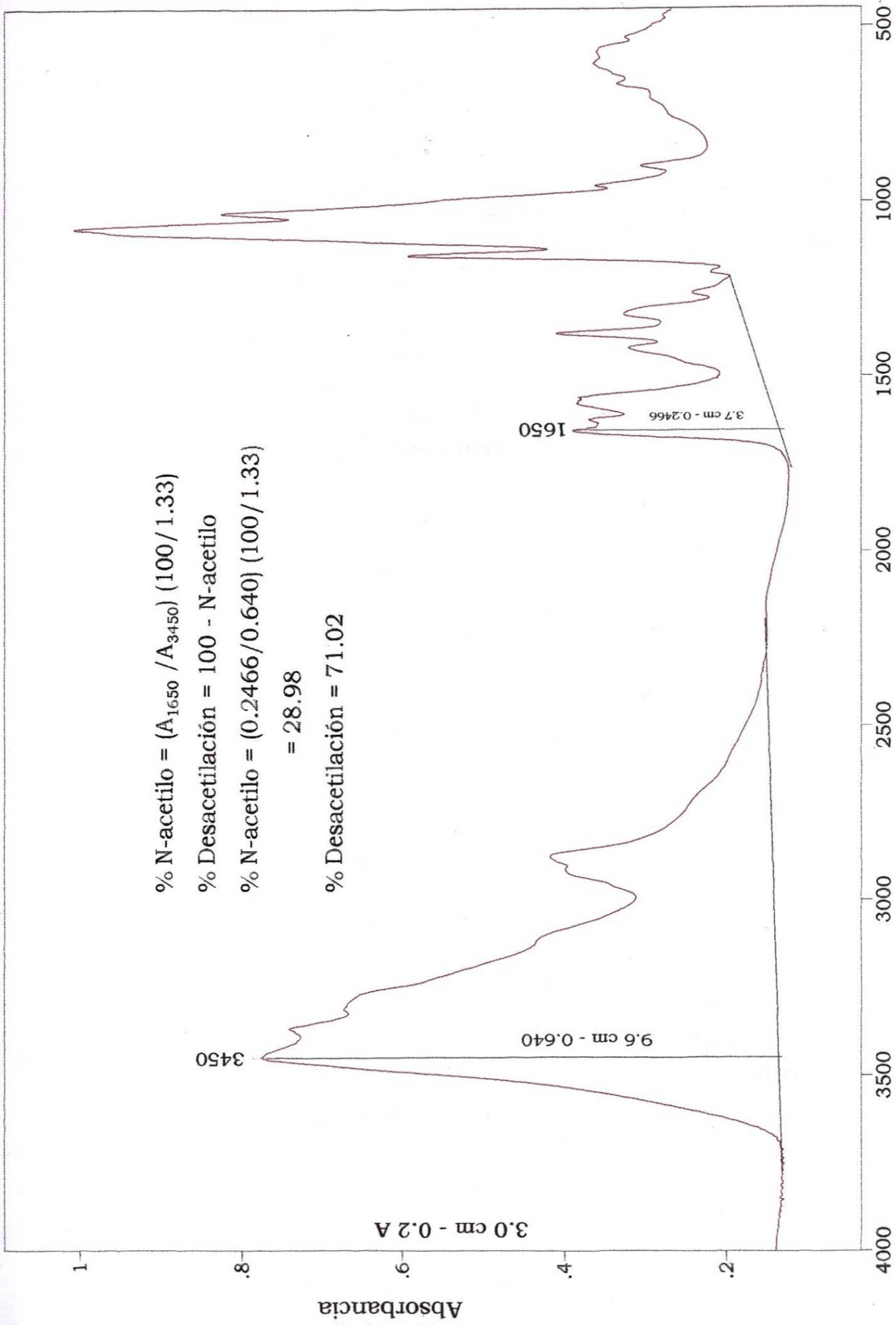
01-04-98 9:31 PM Res=4 cm-1



Número de Onda (cm-1)

01-04-98 7:33 PM Res=4 cm-1

Experimento 5A



$$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$$

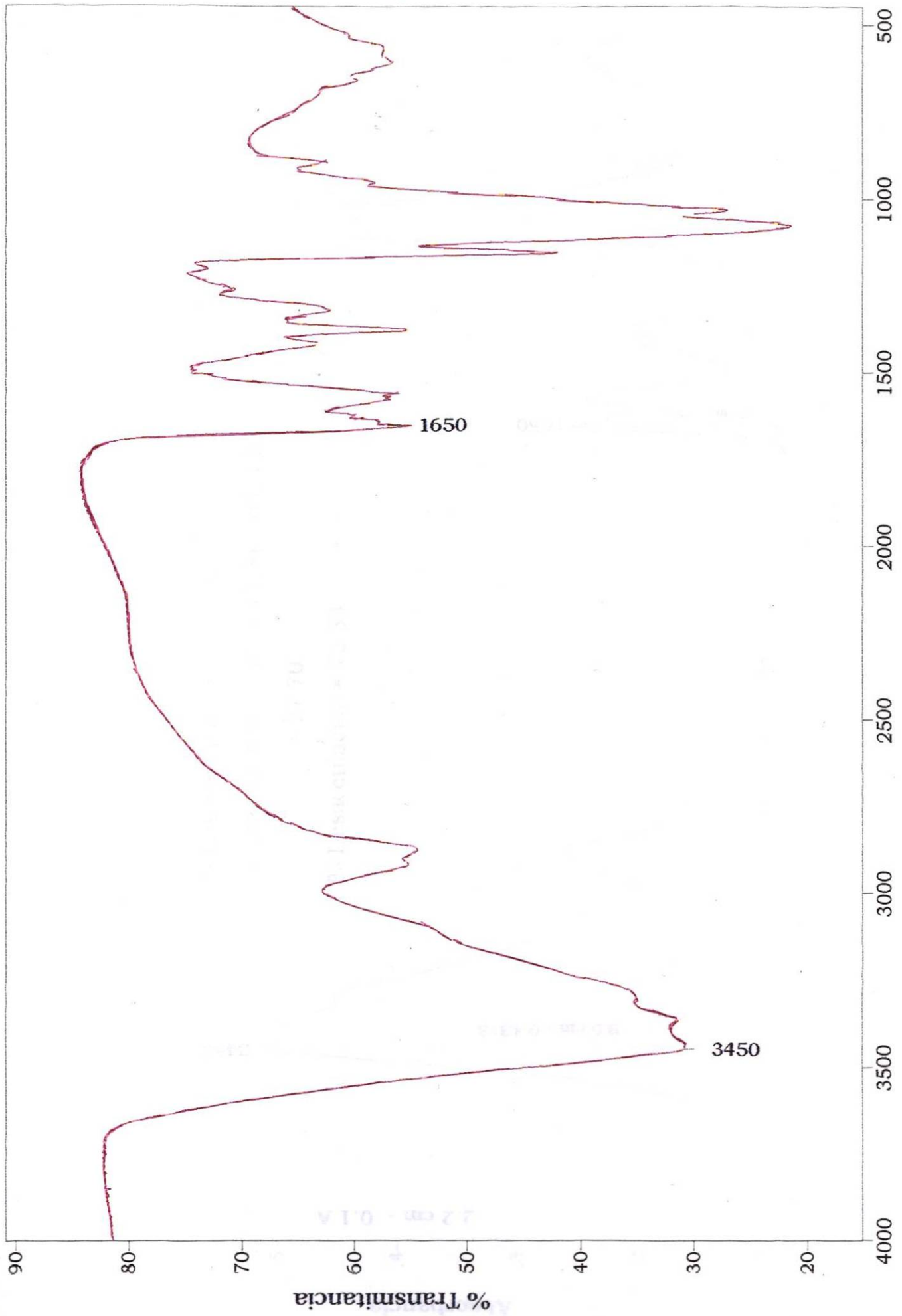
$$\% \text{ Desacetilación} = 100 - \text{N-acetilo}$$

$$\% \text{ N-acetilo} = (0.2466 / 0.640) (100 / 1.33)$$

$$= 28.98$$

$$\% \text{ Desacetilación} = 71.02$$

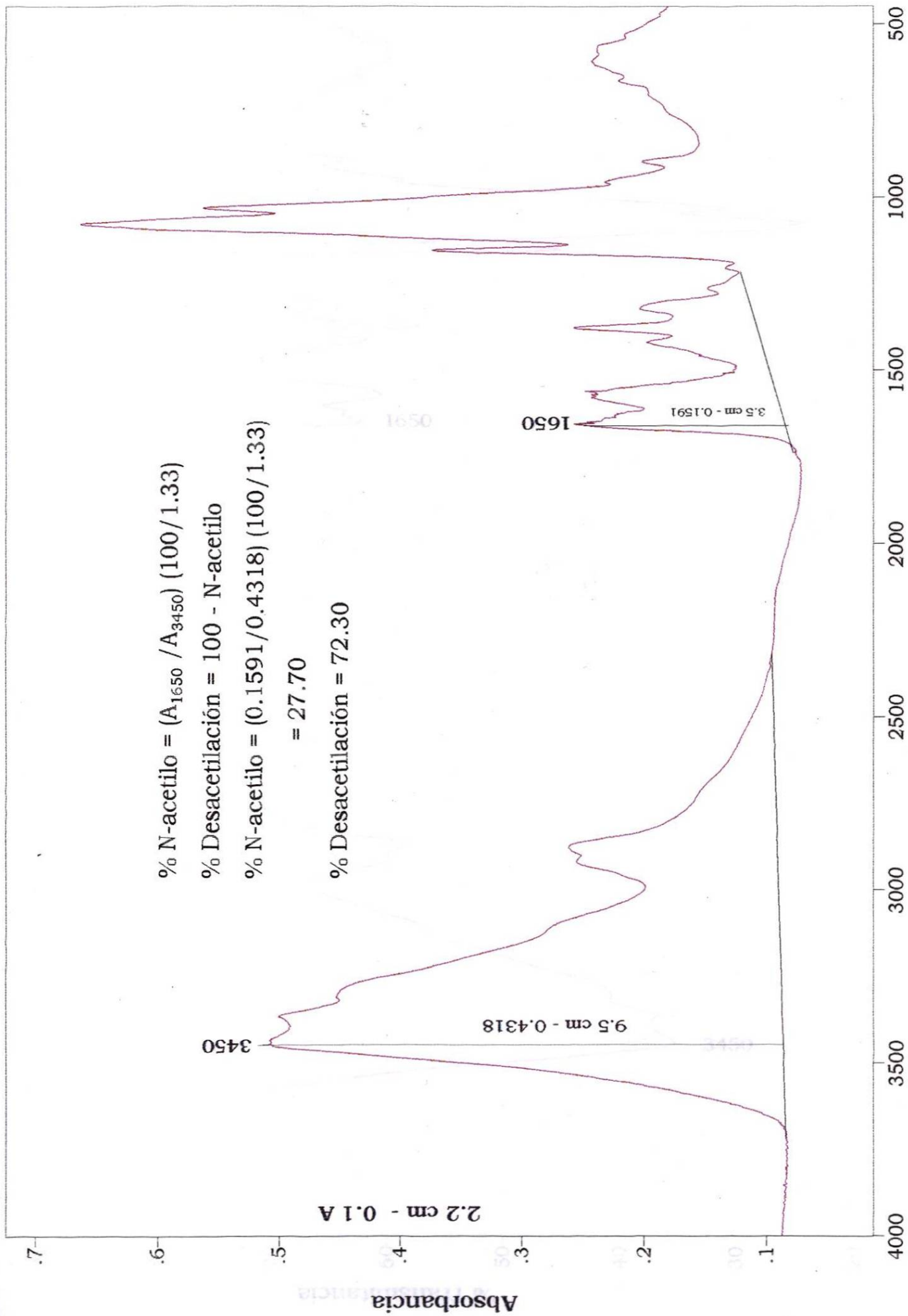
Número de Onda (cm-1)



Número de Onda (cm-1)

01-04-98 9:42 PM Res=4 cm-1





$$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$$

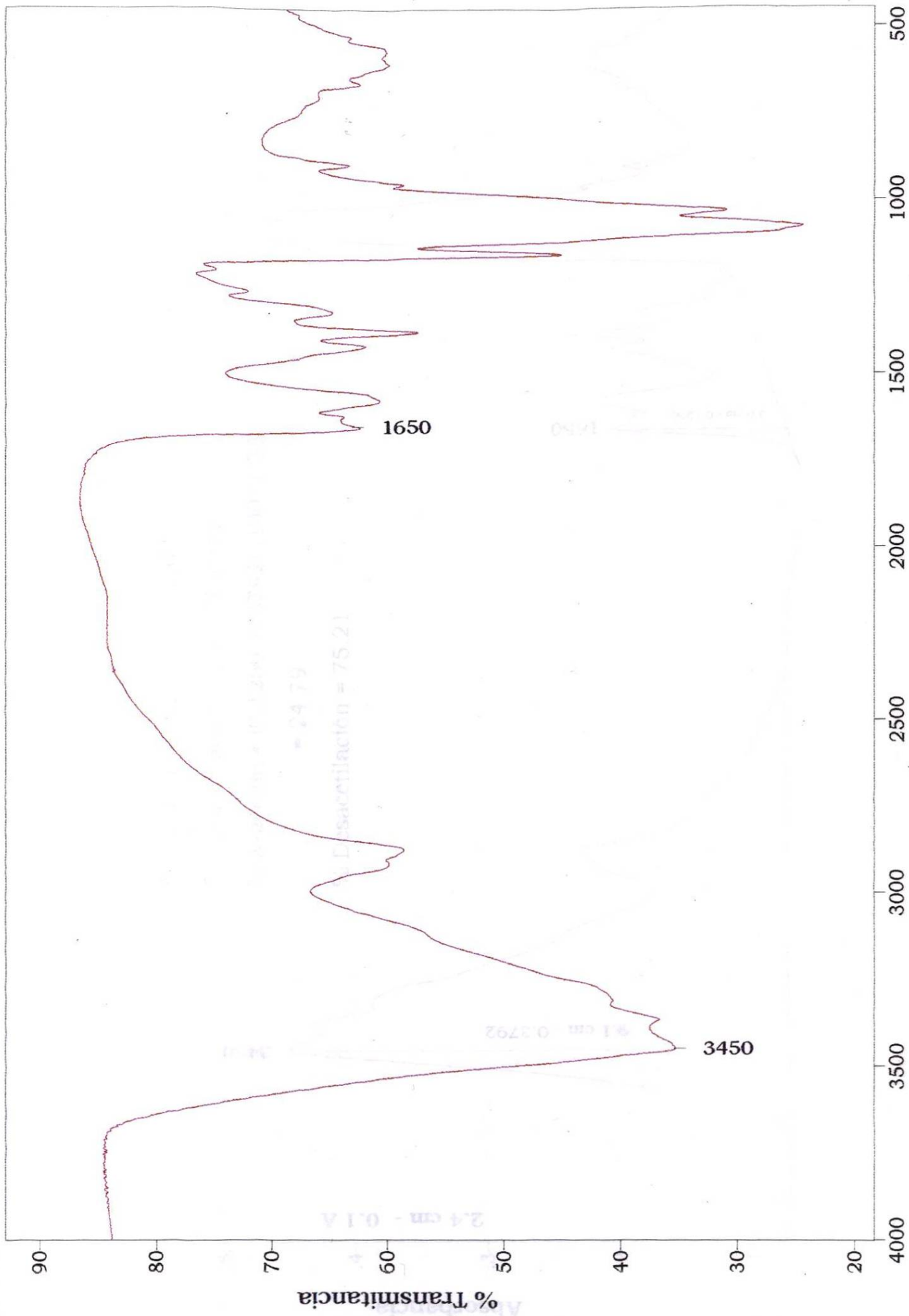
$$\% \text{ Desacetilación} = 100 - \text{N-acetilo}$$

$$\% \text{ N-acetilo} = (0.1591 / 0.4318) (100 / 1.33)$$

$$= 27.70$$

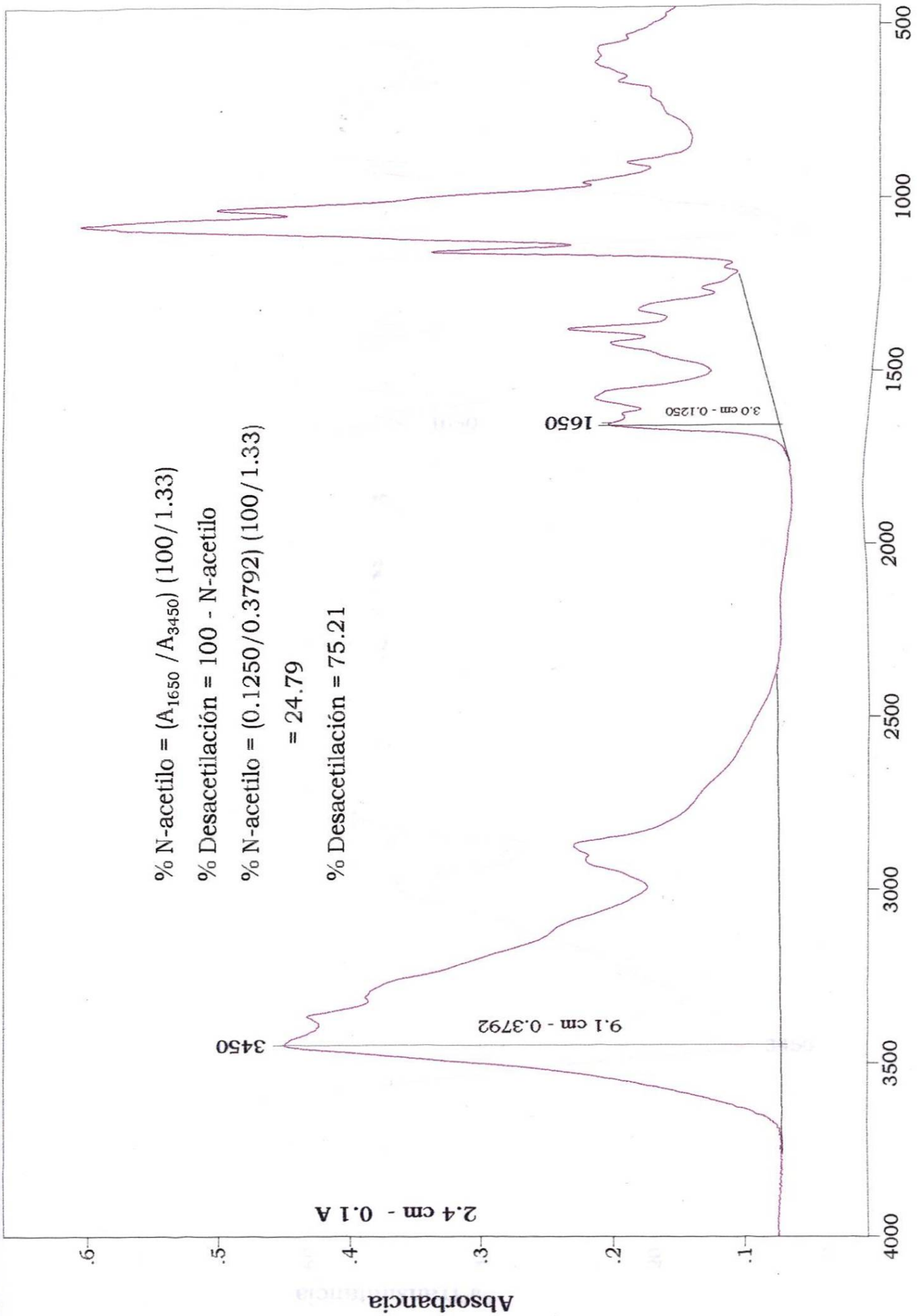
$$\% \text{ Desacetilación} = 72.30$$

Número de Onda (cm-1)



Número de Onda (cm-1)

01-04-98 9:47 PM Res=4 cm-1



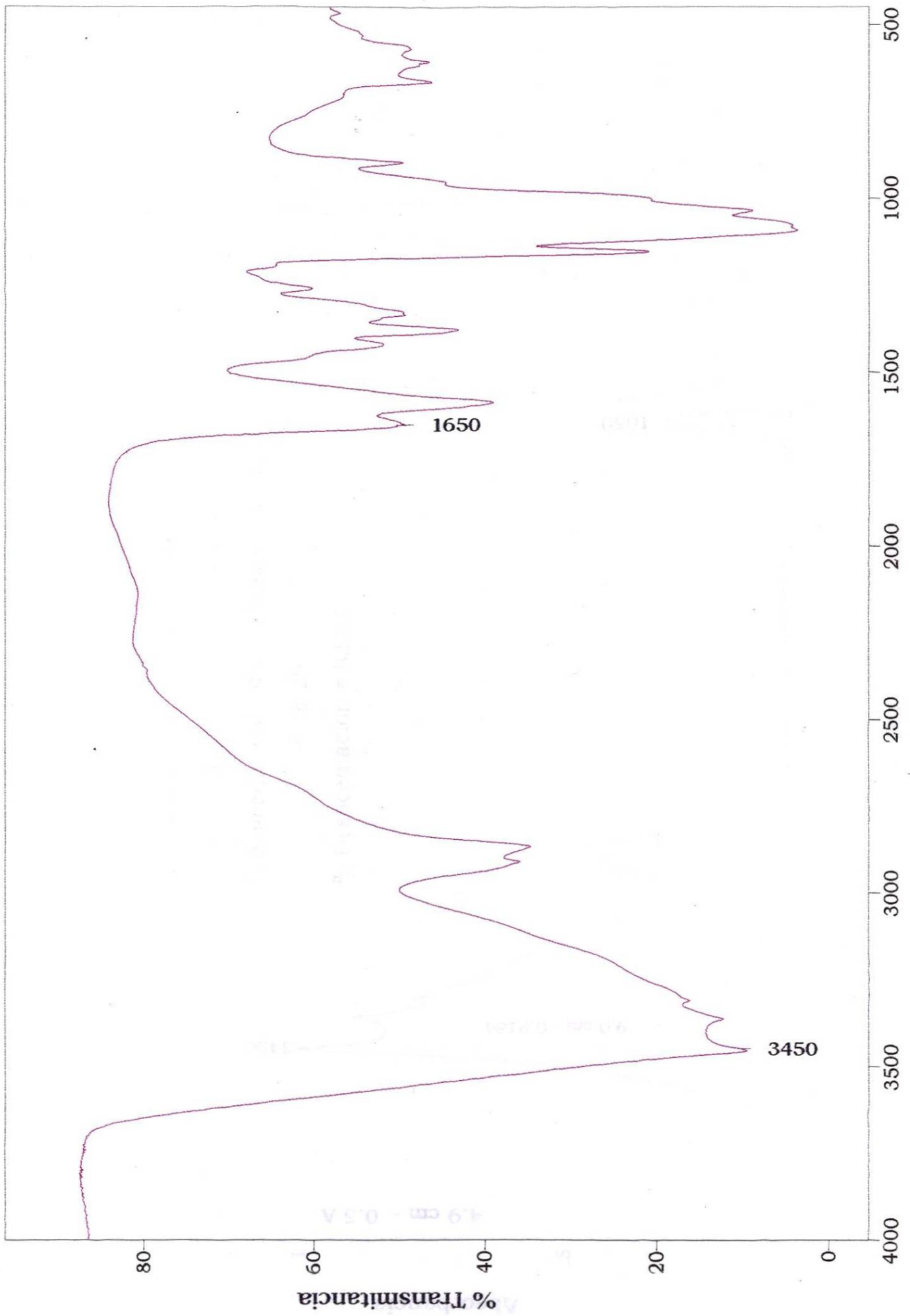
$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$

$\% \text{ Desacetilación} = 100 - \text{N-acetilo}$

$\% \text{ N-acetilo} = (0.1250 / 0.3792) (100 / 1.33)$   
 $= 24.79$

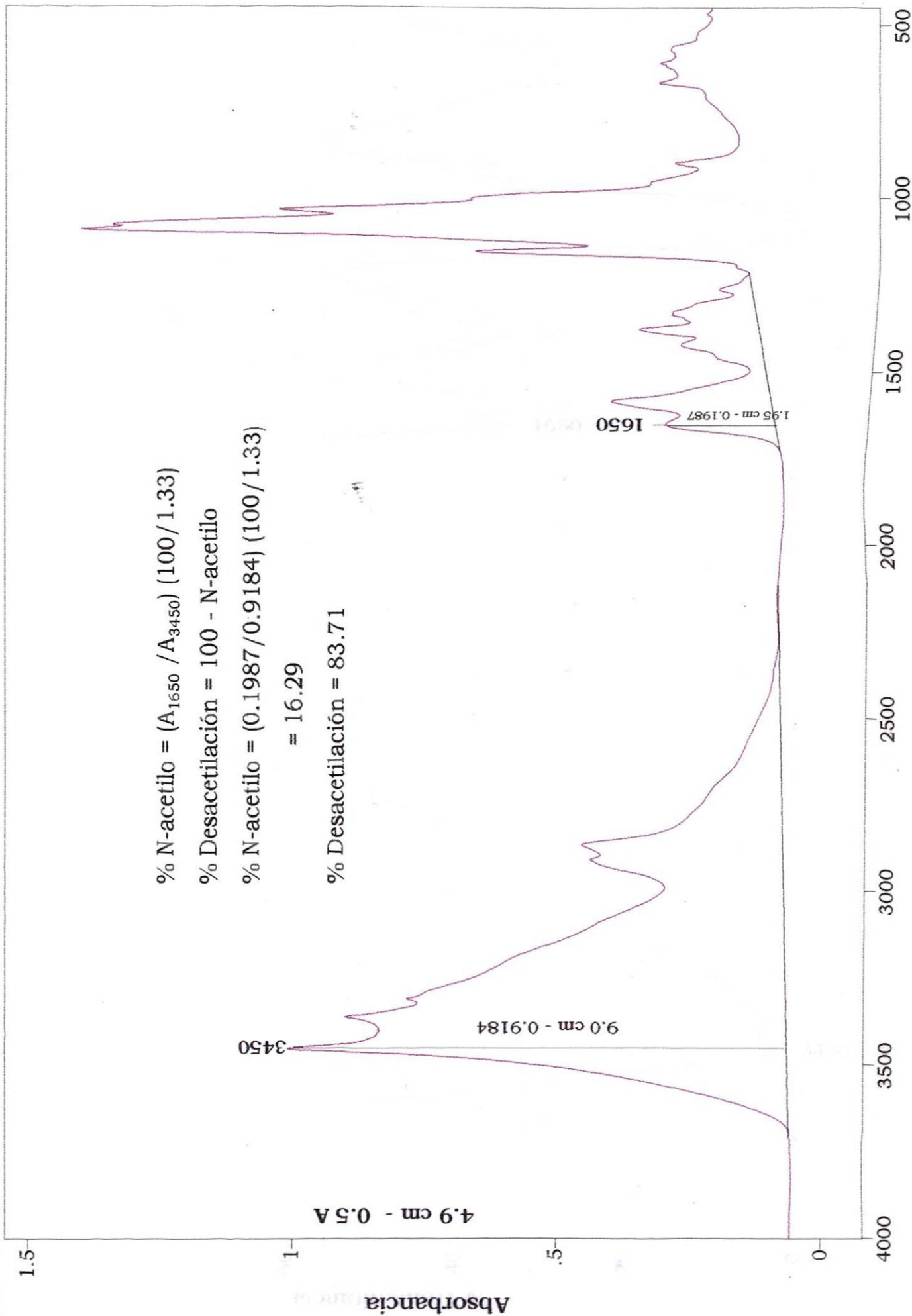
$\% \text{ Desacetilación} = 75.21$

Número de Onda (cm-1)



Número de Onda (cm-1)

01-04-98 6:47 PM Res=4 cm-1



$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$

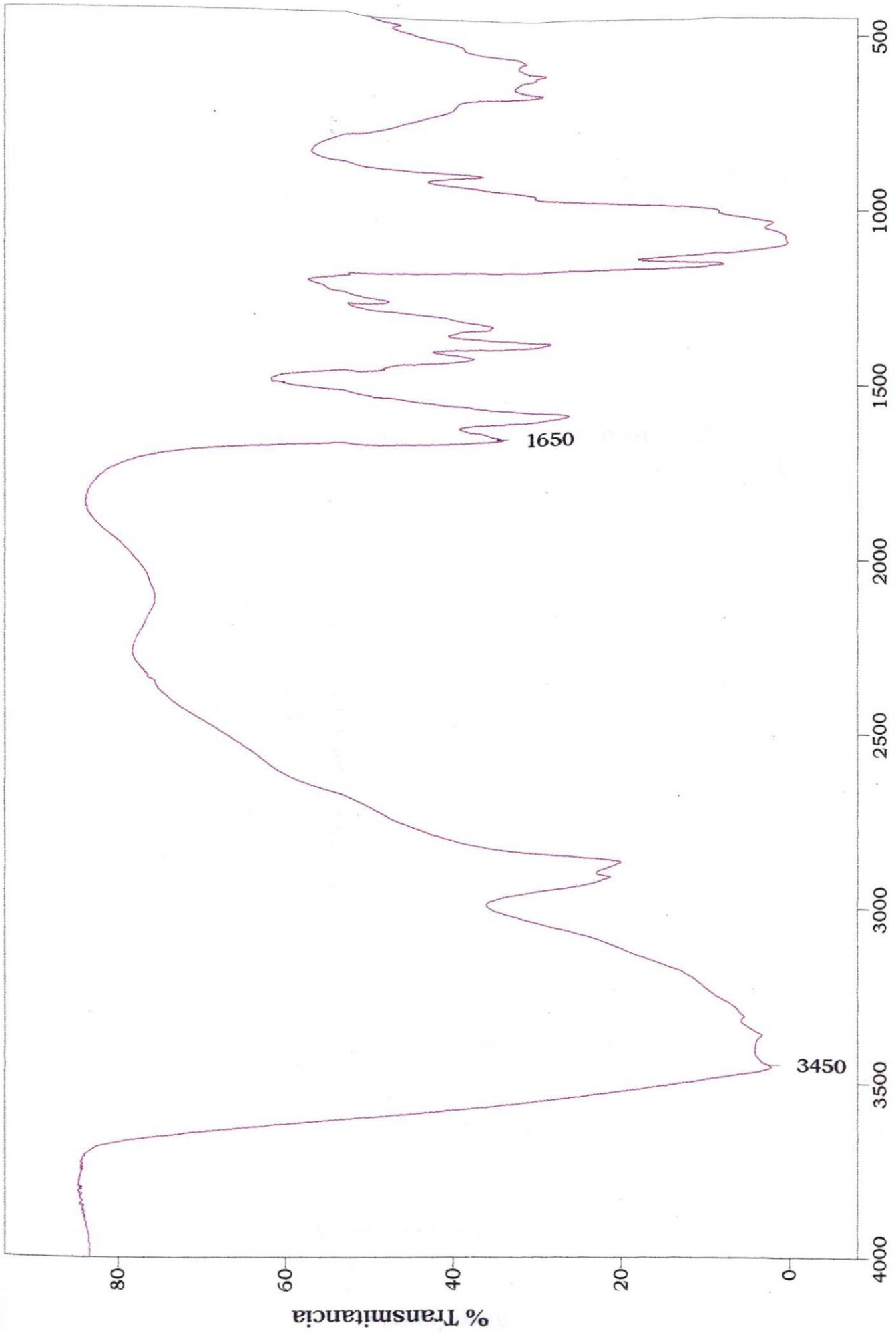
$\% \text{ Desacetilación} = 100 - \text{N-acetilo}$

$\% \text{ N-acetilo} = (0.1987 / 0.9184) (100 / 1.33)$

$= 16.29$

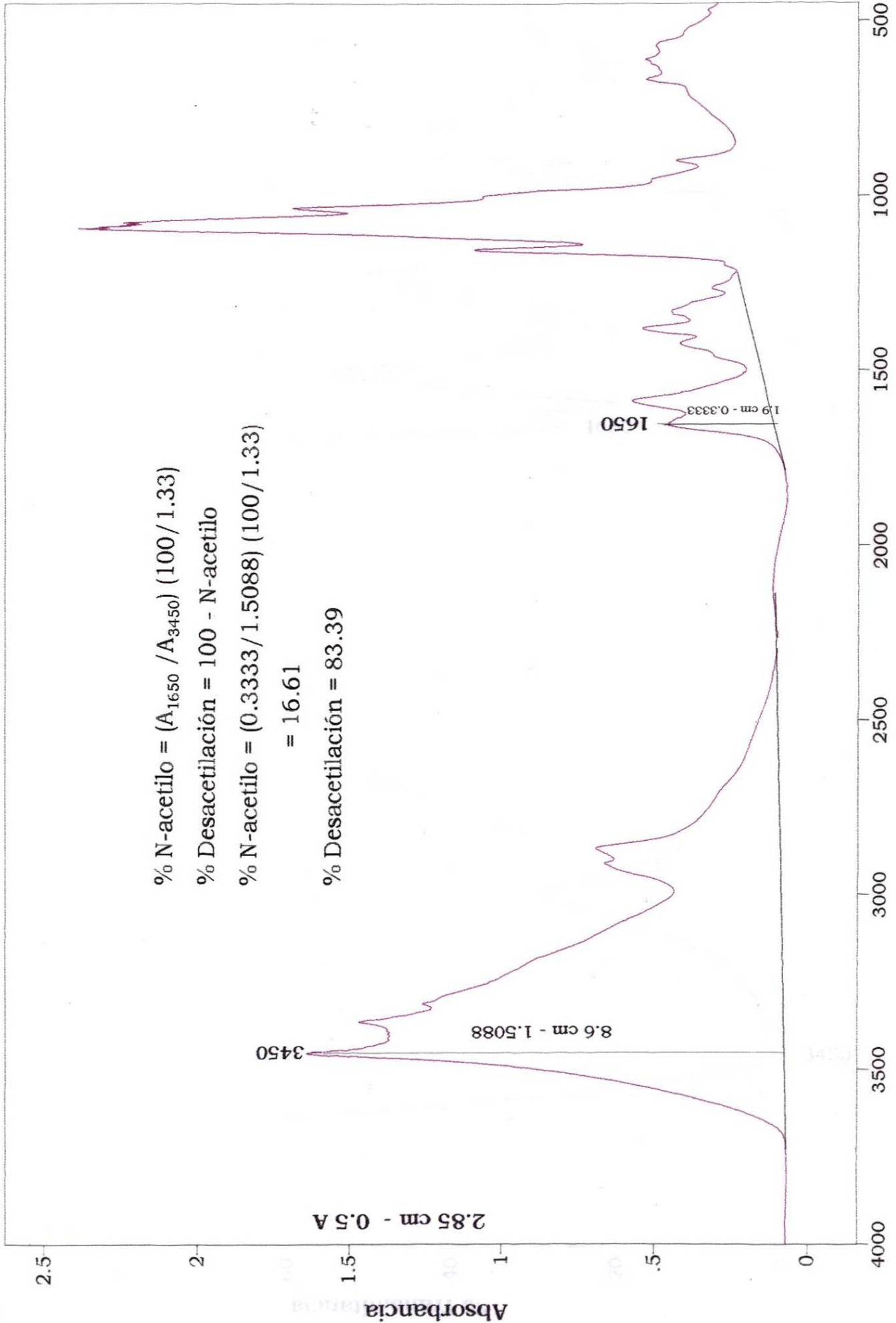
$\% \text{ Desacetilación} = 83.71$

Número de Onda (cm-1)



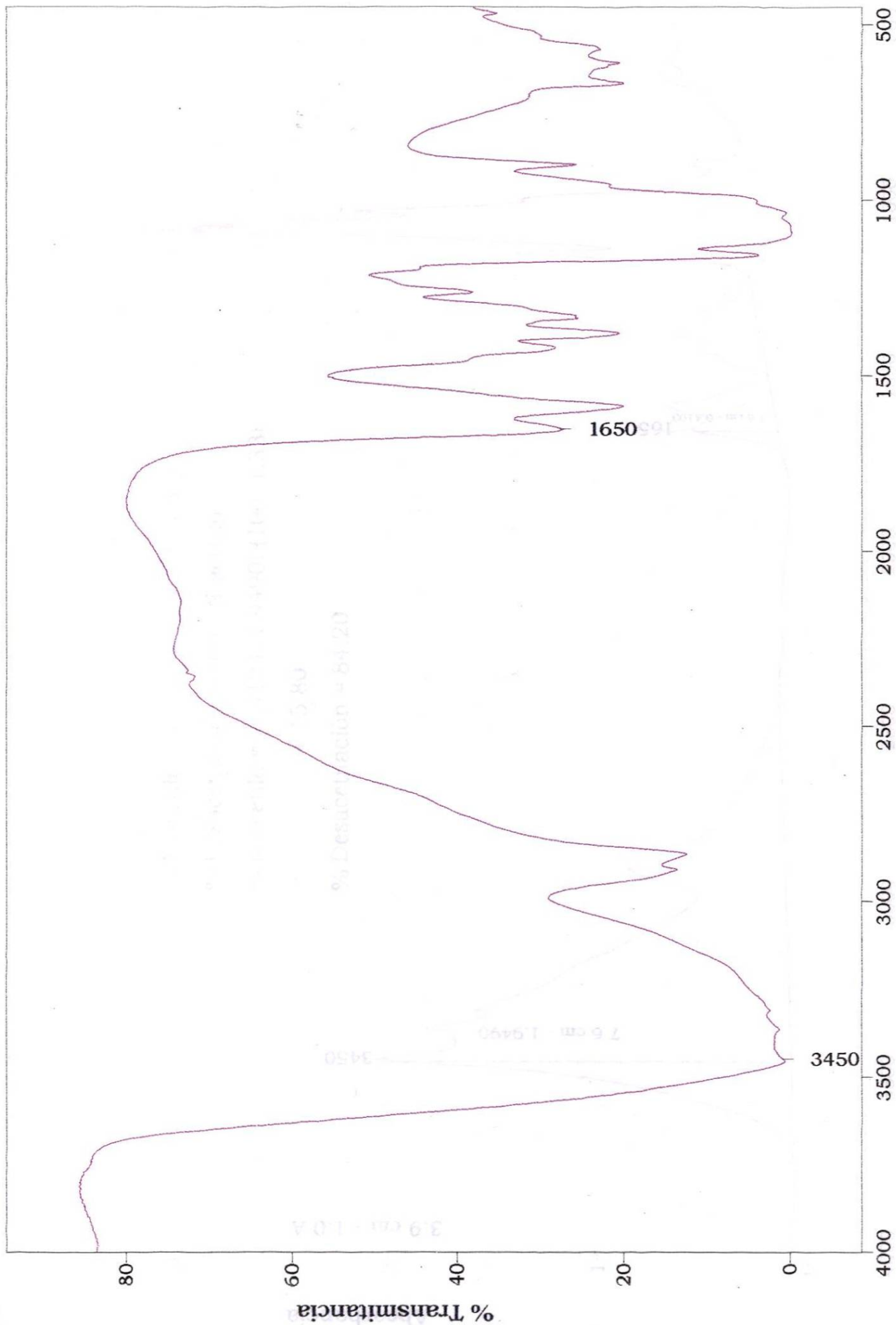
Número de Onda (cm-1)

01-04-98 8:28 PM Res=4 cm-1



$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$   
 $\% \text{ Desacetilación} = 100 - \text{N-acetilo}$   
 $\% \text{ N-acetilo} = (0.3333 / 1.5088) (100 / 1.33)$   
 $= 16.61$   
 $\% \text{ Desacetilación} = 83.39$

Número de Onda (cm-1)

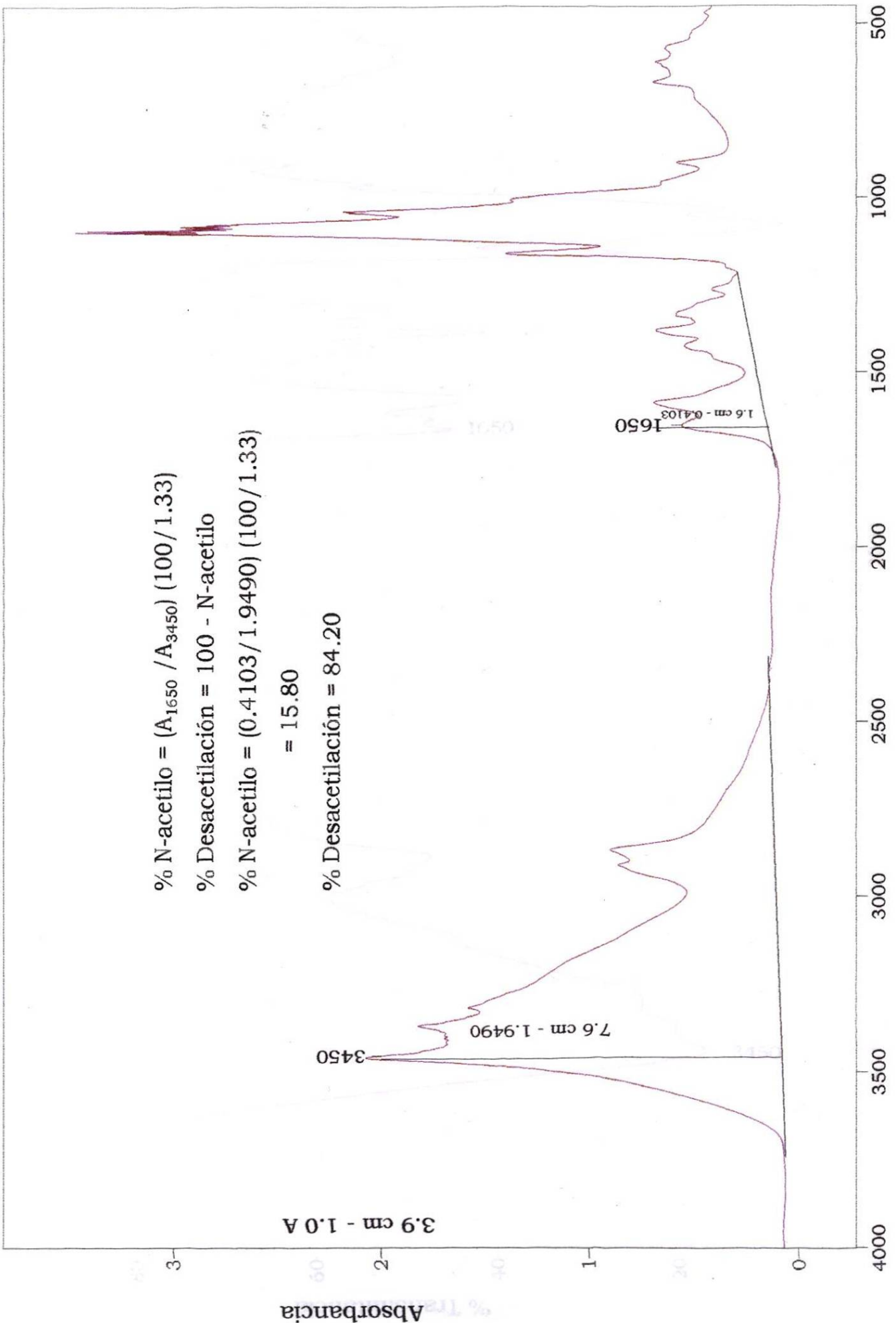


Número de Onda (cm-1)

01-04-98 8:24 PM Res=4 cm-1

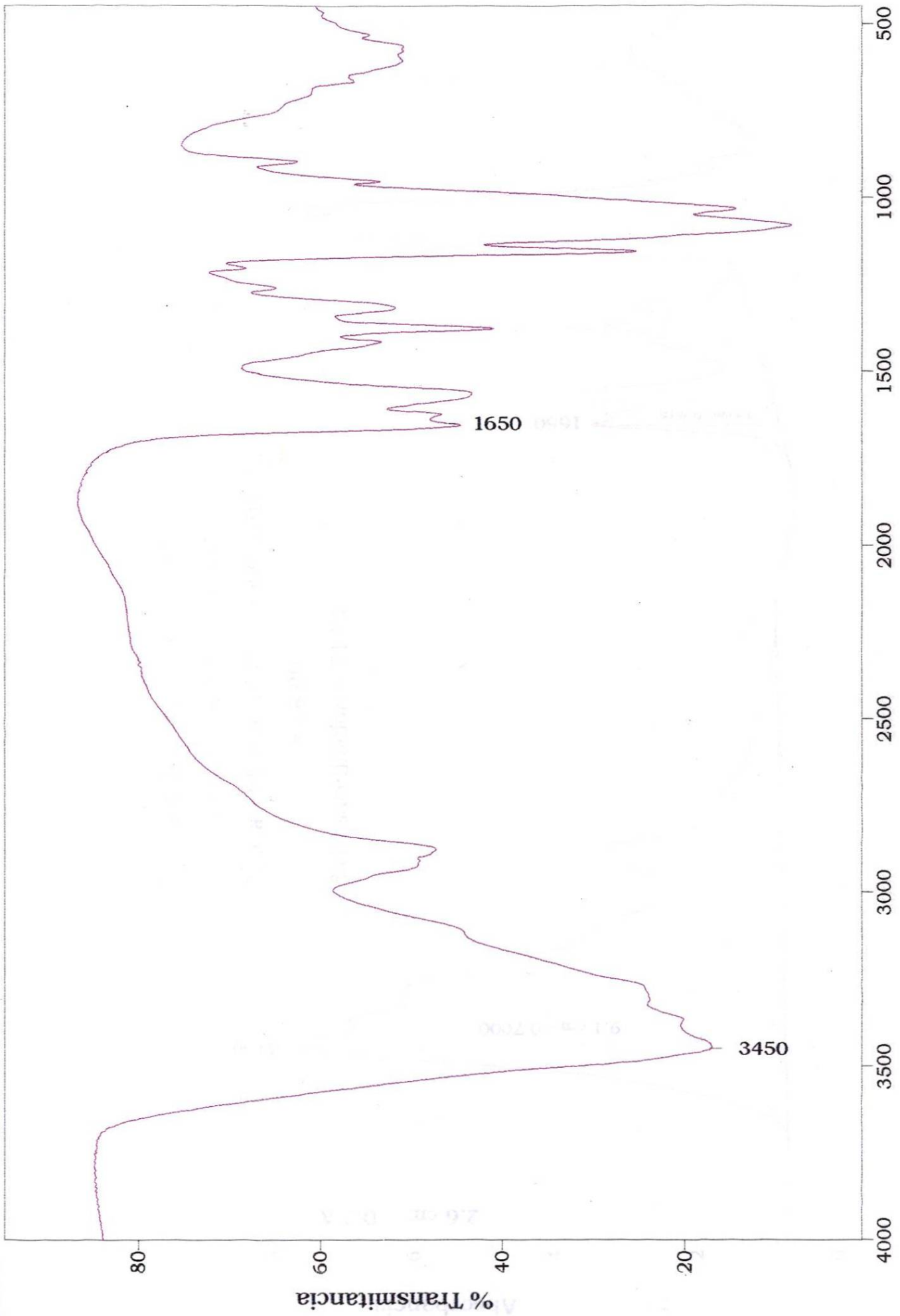
Experimento 6C





$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$   
 $\% \text{ Desacetilación} = 100 - \text{N-acetilo}$   
 $\% \text{ N-acetilo} = (0.4103 / 1.9490) (100 / 1.33)$   
 $= 15.80$   
 $\% \text{ Desacetilación} = 84.20$

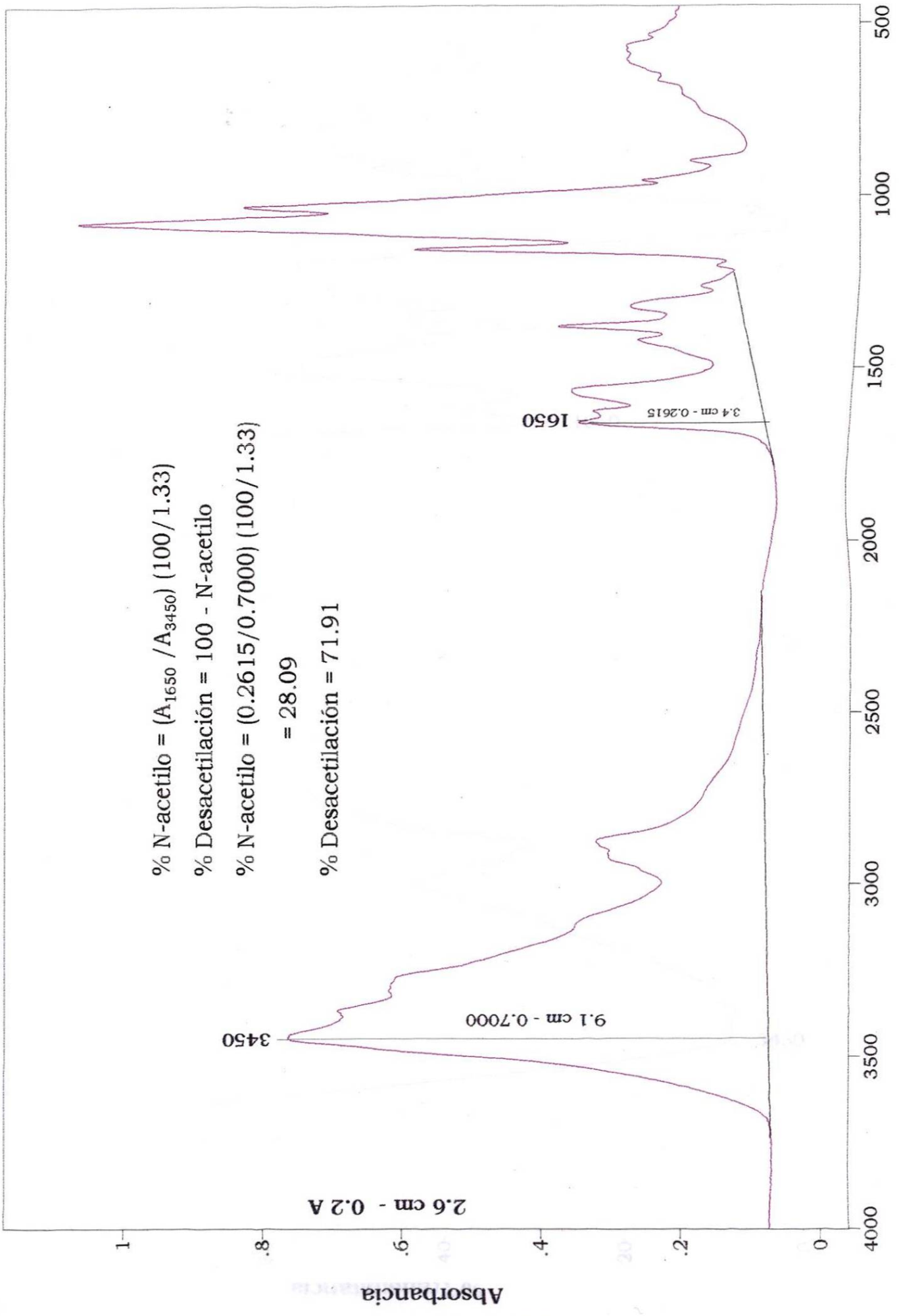
Número de Onda (cm-1)



Número de Onda (cm-1)

01-04-98 8:33 PM Res=4 cm-1

Experimento 7A



$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$

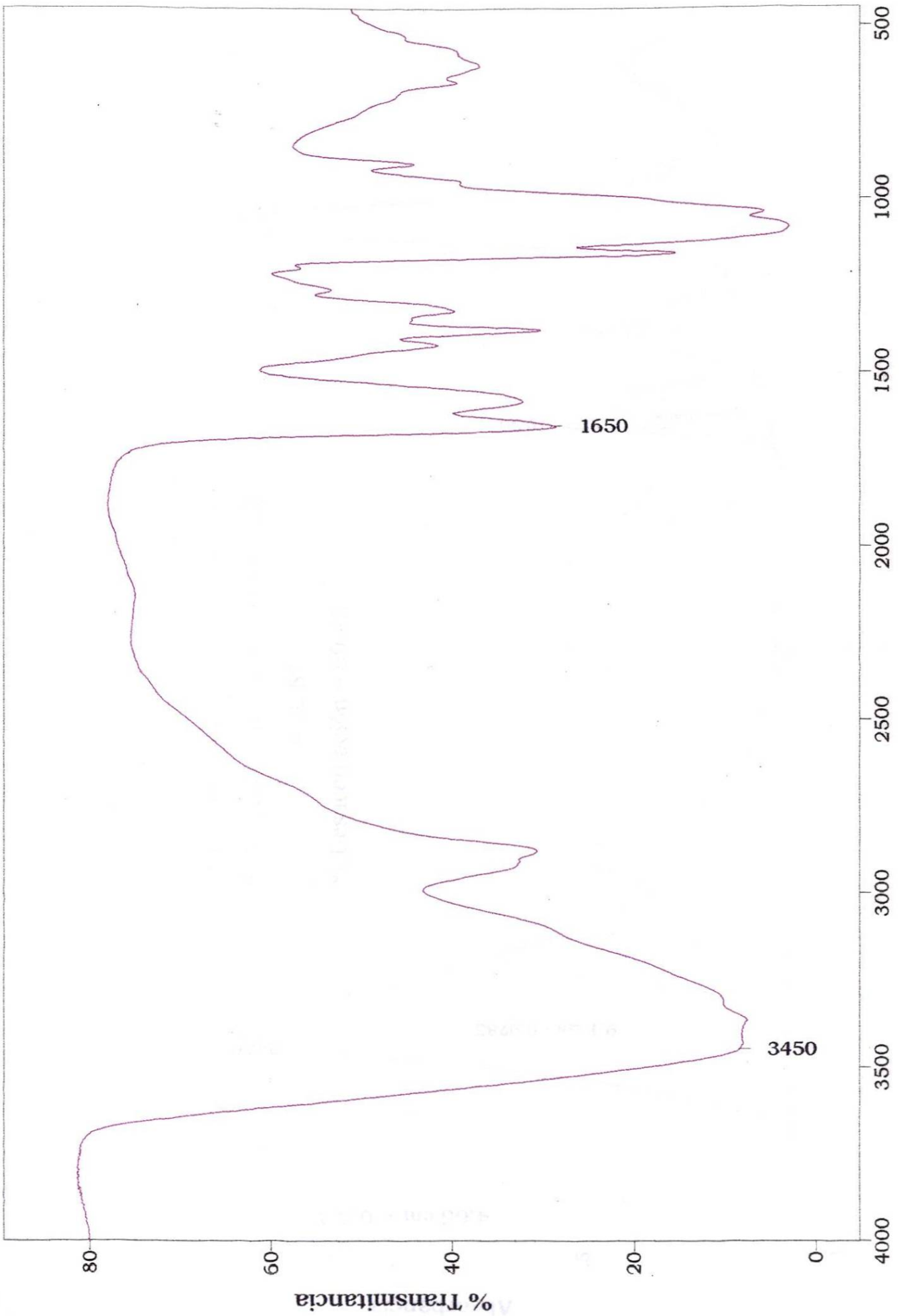
$\% \text{ Desacetilación} = 100 - \text{N-acetilo}$

$\% \text{ N-acetilo} = (0.2615 / 0.7000) (100 / 1.33)$

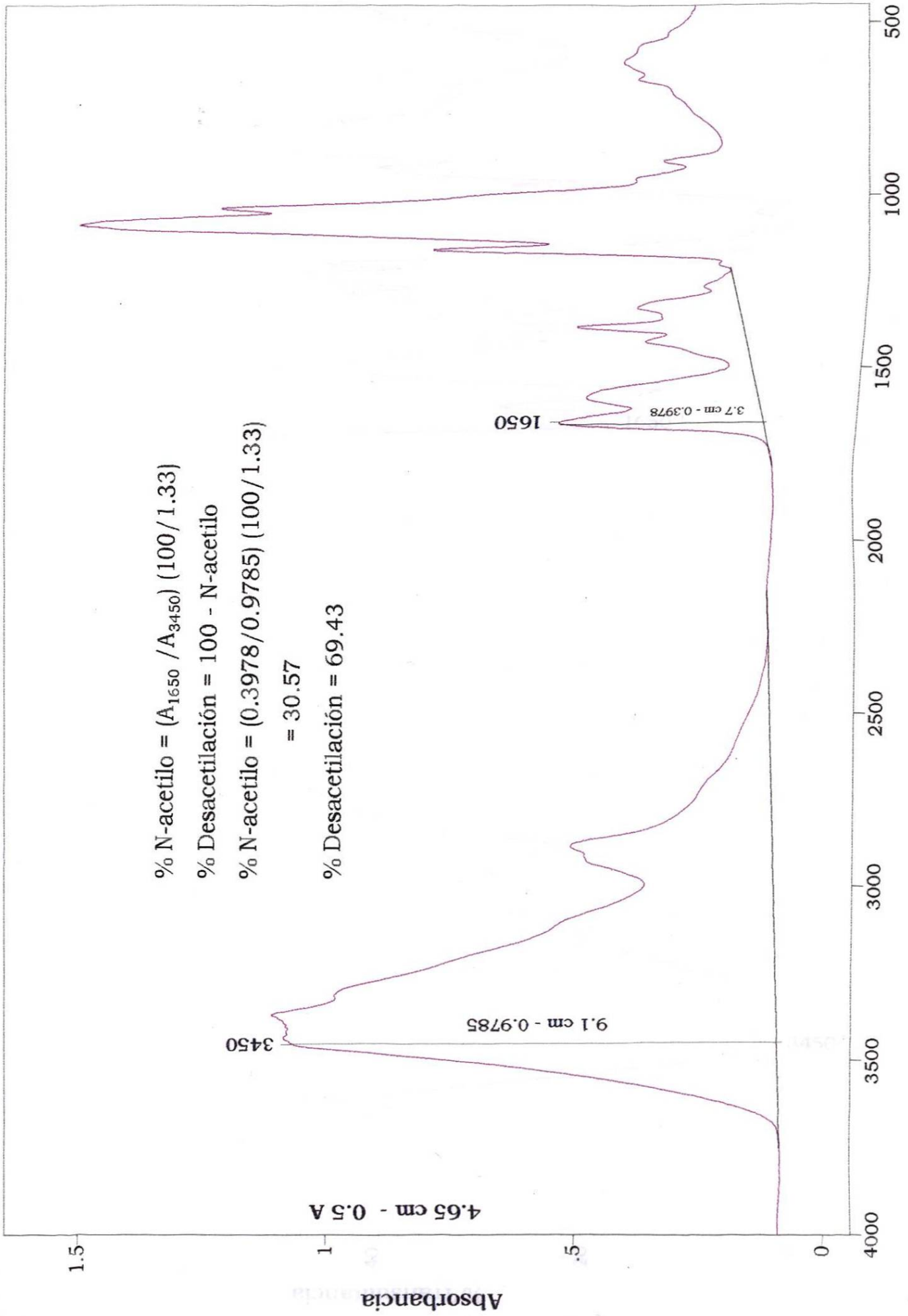
$= 28.09$

$\% \text{ Desacetilación} = 71.91$

Número de Onda (cm-1)



Número de Onda (cm-1)



$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$

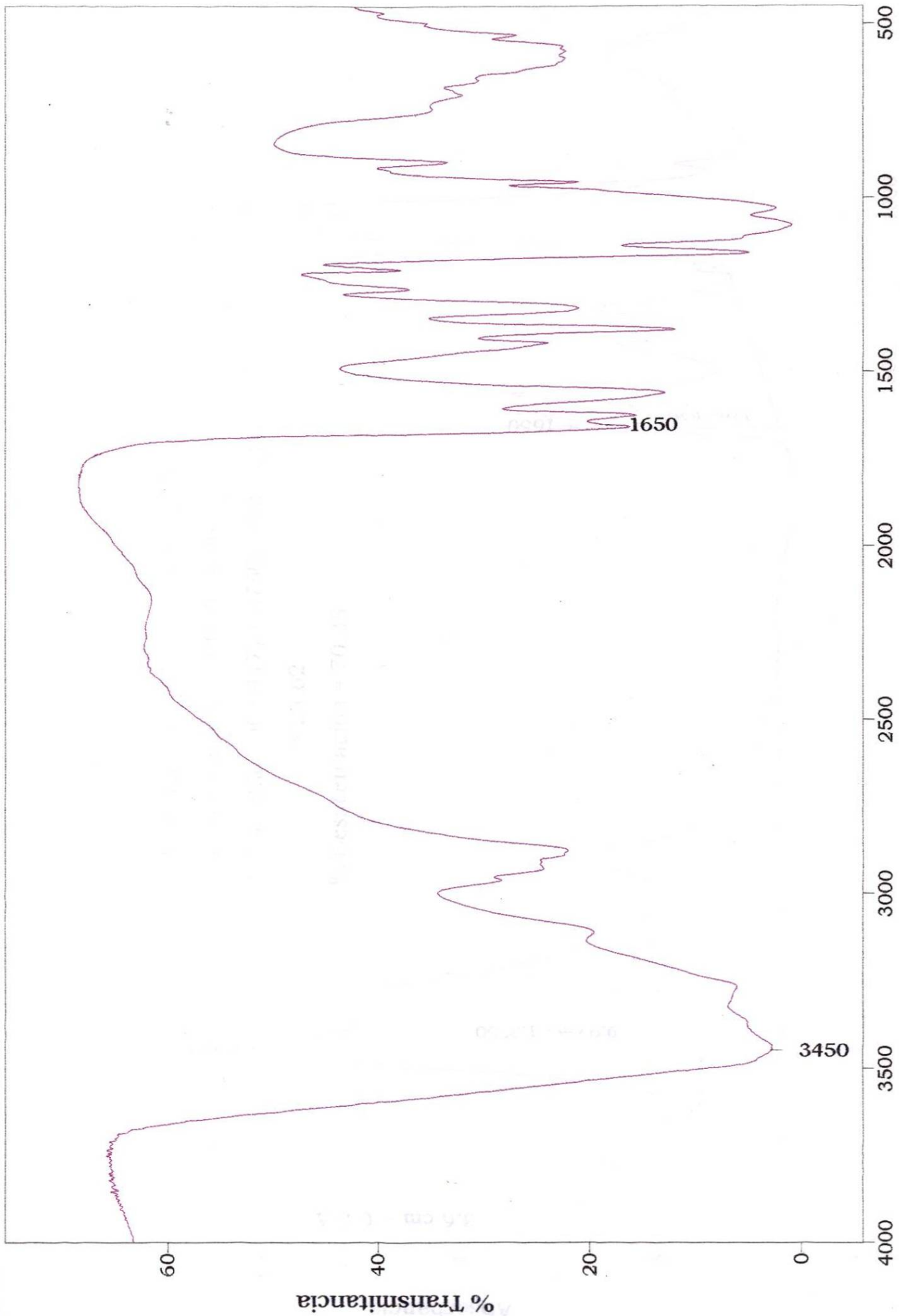
$\% \text{ Desacetilación} = 100 - \text{N-acetilo}$

$\% \text{ N-acetilo} = (0.3978 / 0.9785) (100 / 1.33)$

$= 30.57$

$\% \text{ Desacetilación} = 69.43$

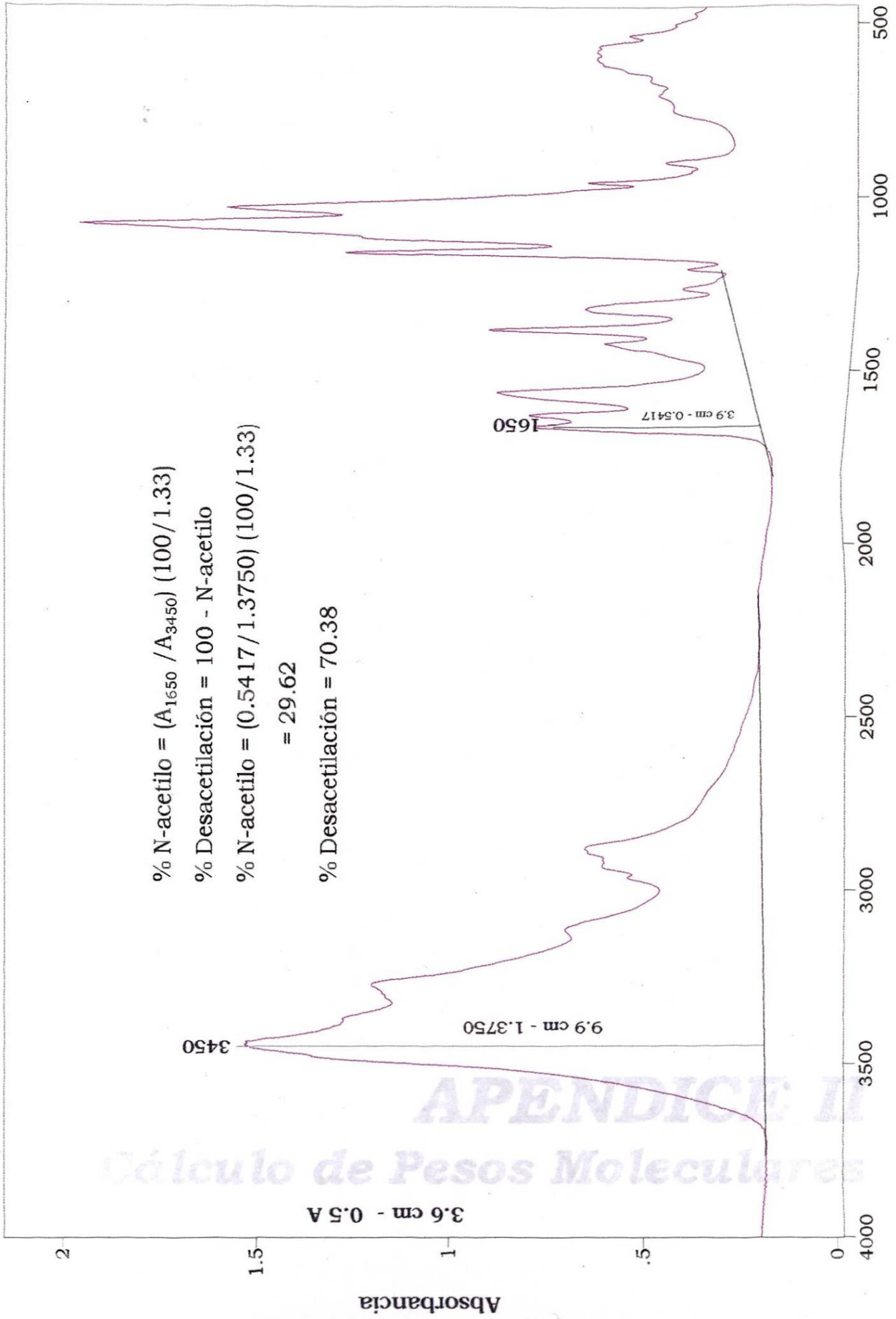
Número de Onda (cm-1)



Número de Onda (cm-1)

01-04-98 8:44 PM Res=4 cm-1

Experimento 7C



$\% \text{ N-acetilo} = (A_{1650} / A_{3450}) (100 / 1.33)$   
 $\% \text{ Desacetilación} = 100 - \text{N-acetilo}$   
 $\% \text{ N-acetilo} = (0.5417 / 1.3750) (100 / 1.33)$   
 $\quad = 29.62$   
 $\% \text{ Desacetilación} = 70.38$

APENDICE II  
 Cálculo de Pesos Moleculares

Número de Onda (cm-1)

***APENDICE II***  
***Cálculo de Pesos Moleculares***



**Experimento 1**

Concentración	nsp/c	c <sup>-1</sup> Ln nrel
0.03	0.7655	0.7569
0.04	0.7844	0.7724
0.06	0.8168	0.7974
0.08	0.8430	0.8158

$\eta = kM^\alpha$  (3)

donde:

$k = (1.64 \times 10^{-30}) \times (D.D^{14})(\text{mL/g})$  (4)

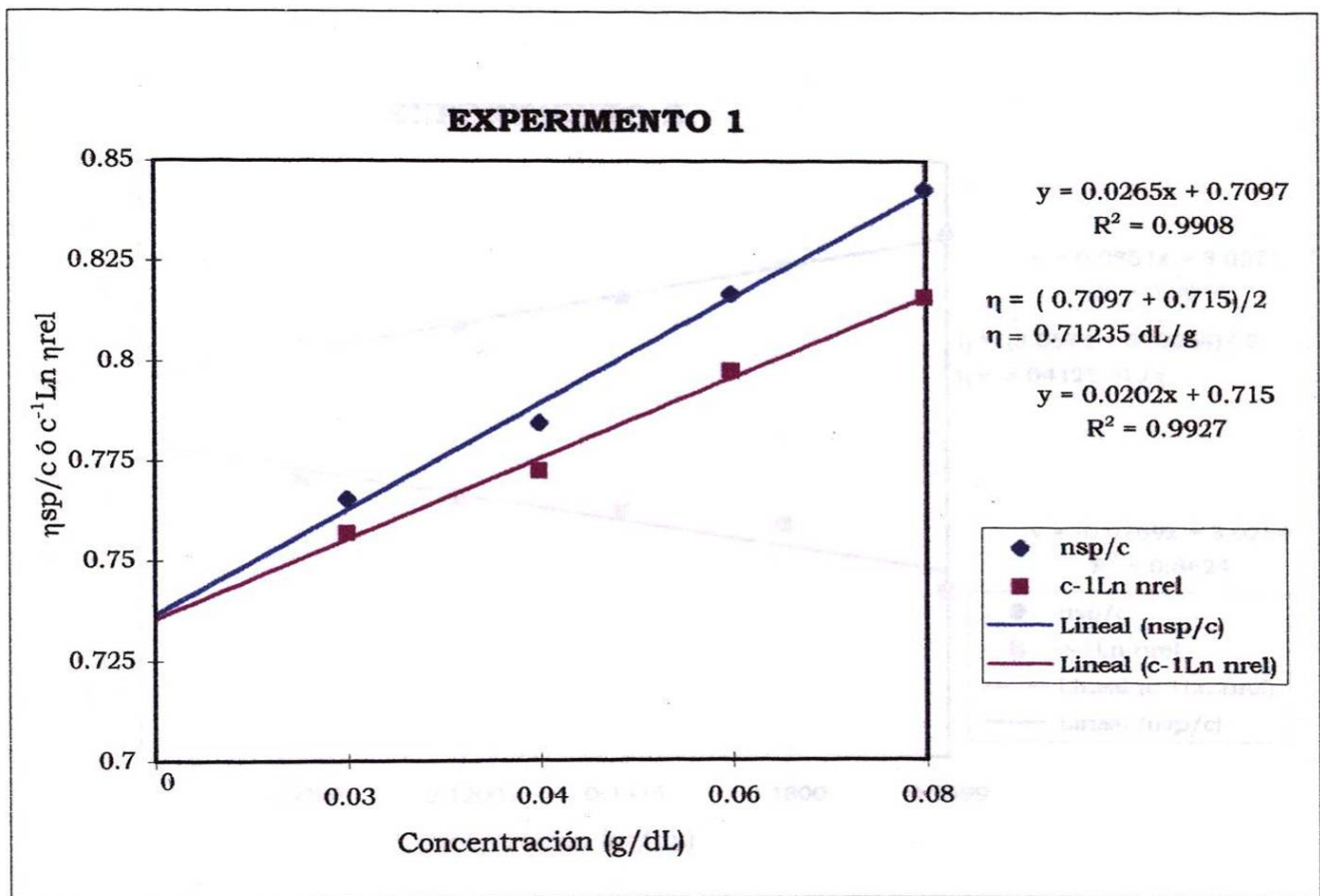
$\alpha = (-1.02 \times 10^{-2}) \times (D.D) + 1.82$  (5)

$K = 0.1181 \times 10^{-3} \text{ mL/g}$

$\alpha = 1.1029$

$\eta = 71.235 \text{ mL/g}$

$M = 174,168 \text{ g/mol}$



**Experimento 2**

Concentración	nsp/c	c <sup>-1</sup> Ln nrel
0.0900	3.2430	2.8455
0.1200	3.2979	2.7886
0.1476	3.3870	2.7467
0.1800	3.4850	2.7051
0.2699	3.5750	2.5026

$\eta = kM^\alpha$  (3)

donde:

$k = (1.64 \times 10^{-30}) \times (D \cdot D^{14}) (\text{mL/g})$  (4)

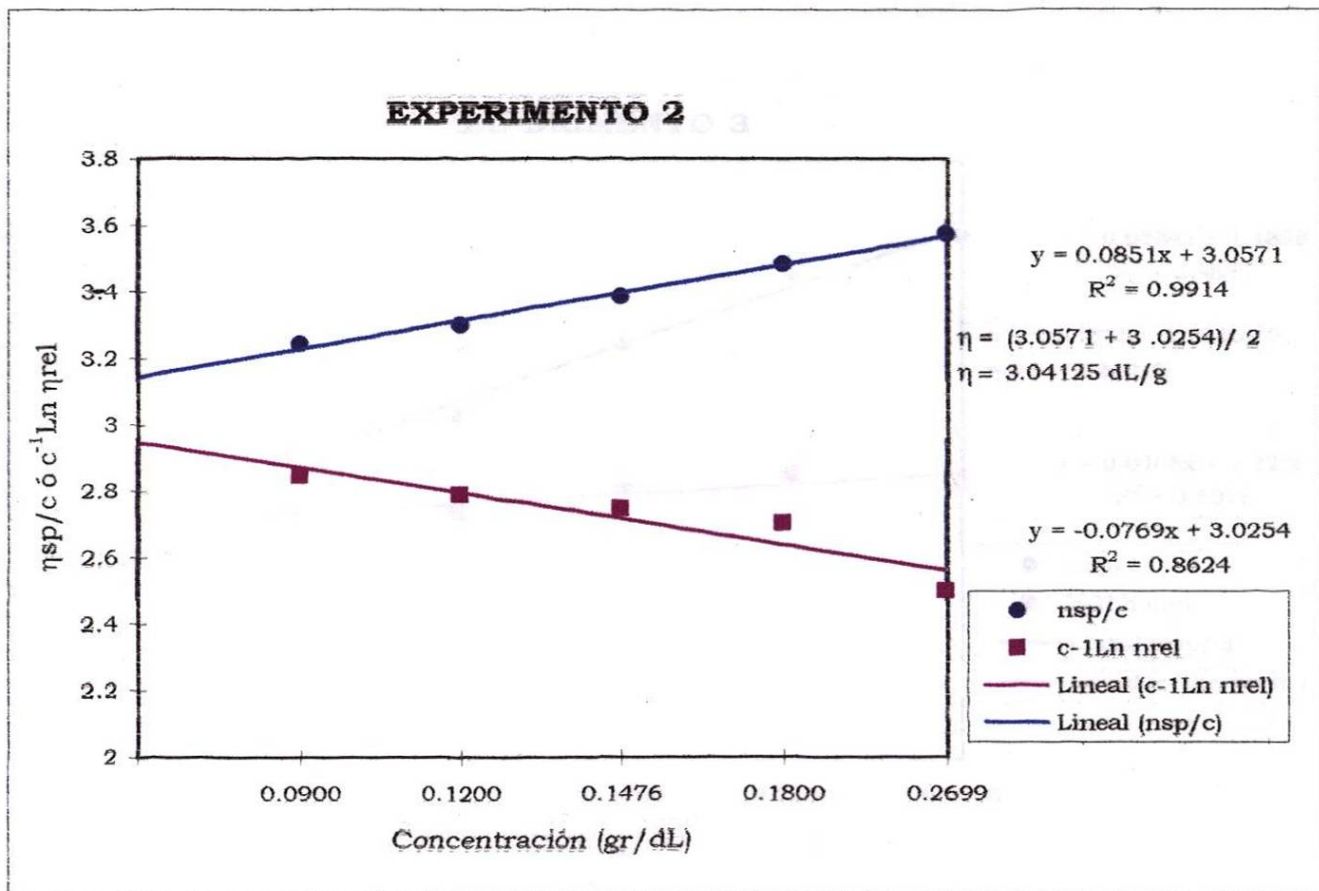
$\alpha = (-1.02 \times 10^{-2}) \times (D \cdot D) + 1.82$  (5)

$K = 0.1926 \times 10^{-3} \text{ mL/g}$

$\alpha = 1.0774$

$\eta = 304.125 \text{ mL/g}$

$M = 566.065 \text{ g/mol}$



**Experimento 3**

Concentración	nsp/c	c <sup>-1</sup> Ln nrel
0.0750	1.3062	1.2461
0.1200	1.3451	1.2470
0.1700	1.4161	1.2688
0.2200	1.4875	1.2869
0.2700	1.5269	1.2785

$\eta = kM^\alpha$  (3)

donde:

$k = (1.64 \times 10^{-30}) \times (D.D)^4$  (mL/g) (4)

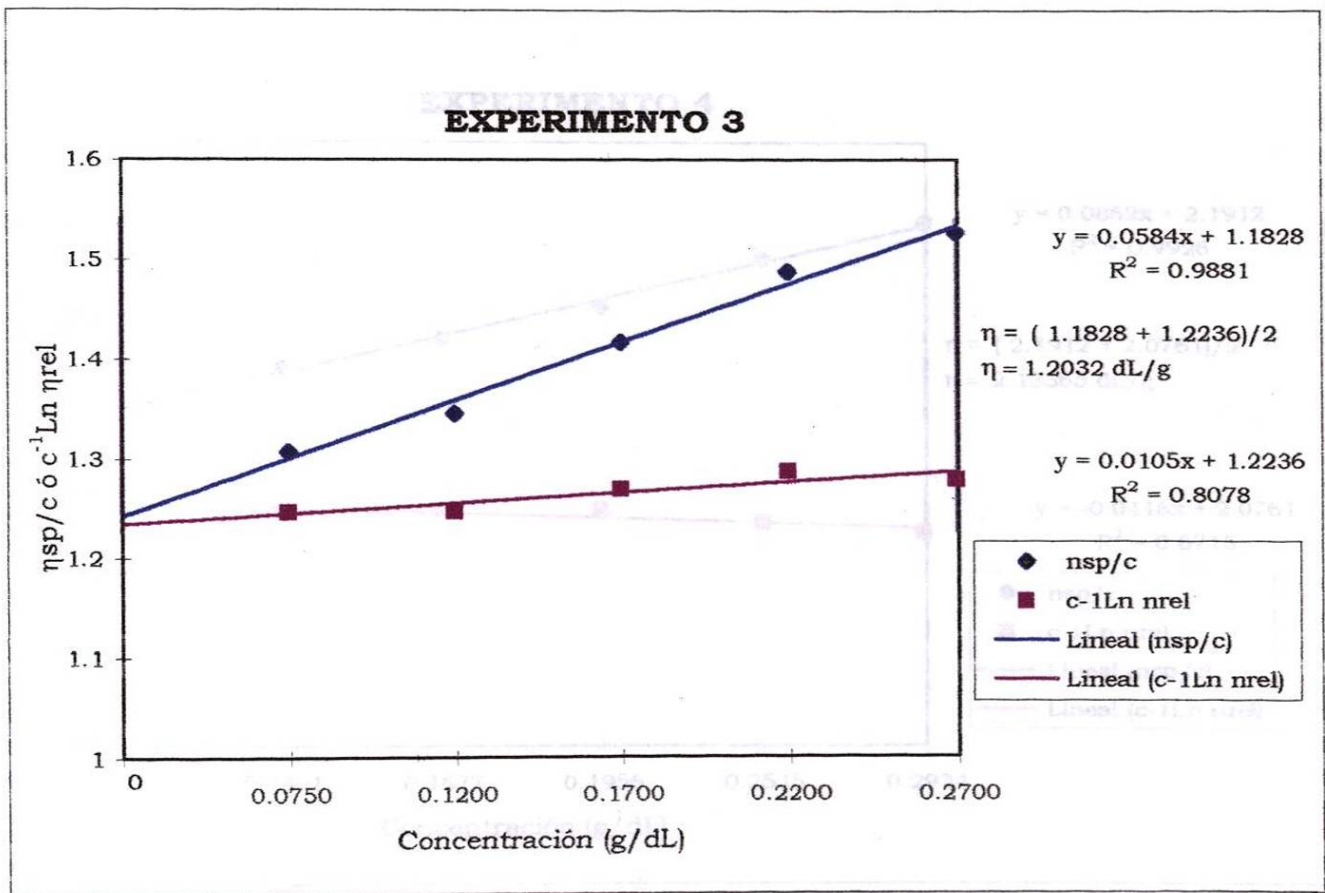
$\alpha = (-1.02 \times 10^{-2}) \times (D.D) + 1.82$  (5)

$K = 0.6547 \times 10^{-4}$  mL/g

$\alpha = 1.1325$

$\eta = 120.320$  mL/g

$M = 339,823$  g/mol



**Experimento 4**

Concentración	nsp/c	c <sup>-1</sup> Ln nrel
0.1461	2.3752	2.03896
0.1677	2.444	2.04824
0.1956	2.518	2.04738
0.2515	2.628	2.01744
0.2934	2.714	1.99633

$\eta = kM^\alpha$  (3)

donde:

$k = (1.64 \times 10^{-30}) \times (D.D^{14})(\text{mL/g})$  (4)

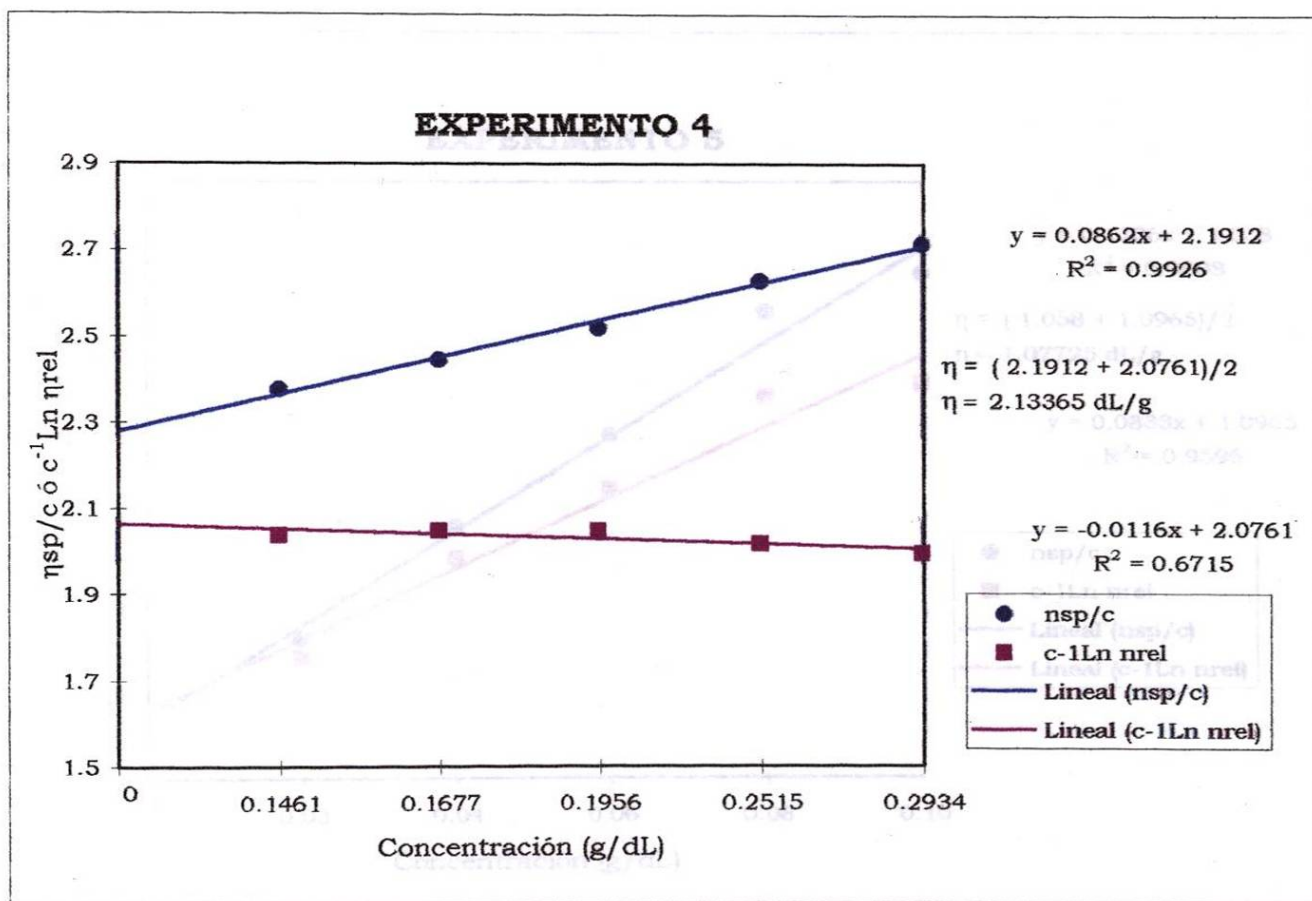
$\alpha = (-1.02 \times 10^{-2}) \times (D.D) + 1.82$  (5)

$K = 2.94 \times 10^{-6} \text{ mL/g}$

$\alpha = 1.2692$

$\eta = 304.125 \text{ mL/g}$

$M = 1'561,282 \text{ g/mol}$



**Experimento 5**

Concentración	nsp/c	c <sup>-1</sup> Ln nrel
0.03	1.2651	1.2417
0.04	1.3949	1.3574
0.06	1.5032	1.4392
0.08	1.6470	1.5472
0.10	1.6922	1.5634

$\eta = kM^\alpha$  (3)

donde:

$k = (1.64 \times 10^{-30}) \times (D.D^{14})(\text{mL/g})$  (4)

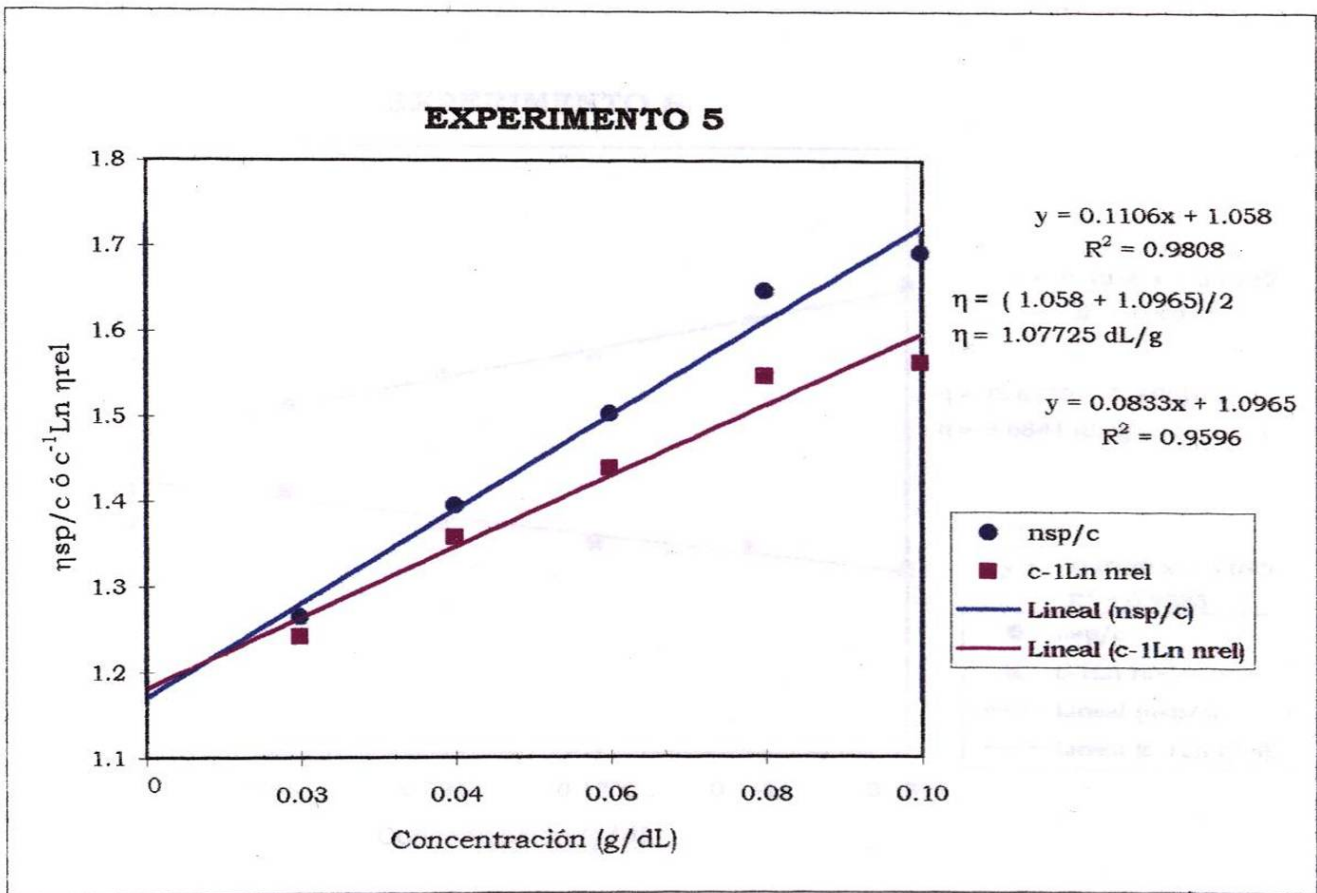
$\alpha = (-1.02 \times 10^{-2}) \times (D.D) + 1.82$  (5)

$K = 0.1926 \times 10^{-3} \text{ mL/g}$

$\alpha = 1.0774$

$\eta = 107.725 \text{ mL/g}$

$M = 216,036 \text{ g/mol}$



**Experimento 6**

Concentración	nsp/c	c <sup>-1</sup> Ln nrel
0.0514	3.9294	3.5790
0.0914	4.0530	3.4479
0.1200	4.1422	3.3626
0.1411	4.2800	3.3483
0.1801	4.4341	3.2593

$\eta = kM^\alpha$  (3)

donde:

$k = (1.64 \times 10^{-30}) \times (D \cdot D^{14}) (\text{mL/g})$  (4)

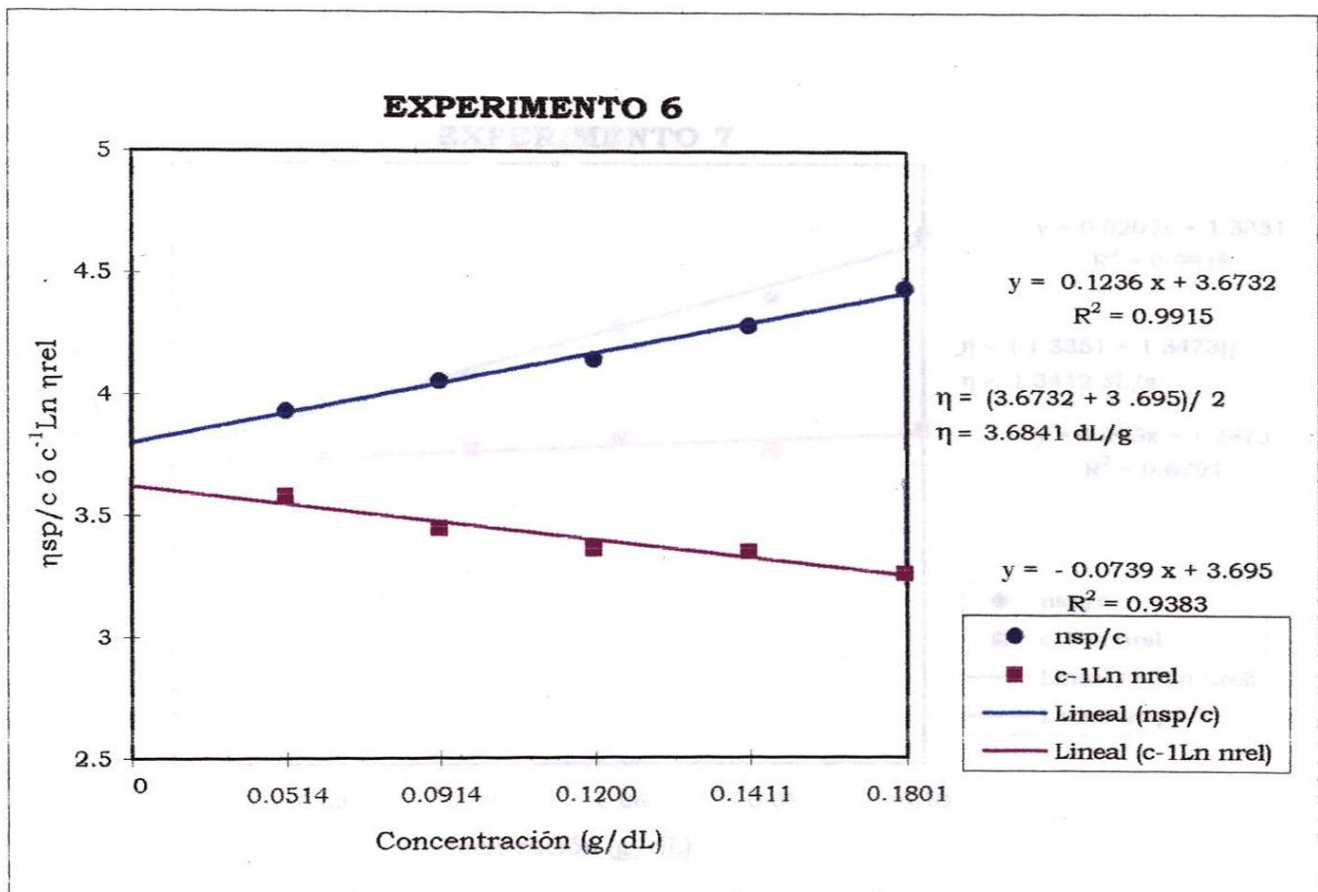
$\alpha = (-1.02 \times 10^{-2}) \times (D \cdot D) + 1.82$  (5)

$K = 0.001358 \text{ mL/g}$

$\alpha = 0.9663$

$\eta = 368.41 \text{ mL/g}$

$M = 419,810 \text{ g/mol}$



**Experimento 7**

Concentración	nsp/c	c <sup>-1</sup> Ln nrel
0.03	1.3801	1.3523
0.04	1.3950	1.3574
0.06	1.4192	1.3620
0.08	1.4334	1.3570
0.10	1.4653	1.3674

$\eta = kM^\alpha$  (3)

donde:

$k = (1.64 \times 10^{-30}) \times (D.D^{14})(\text{mL/g})$  (4)

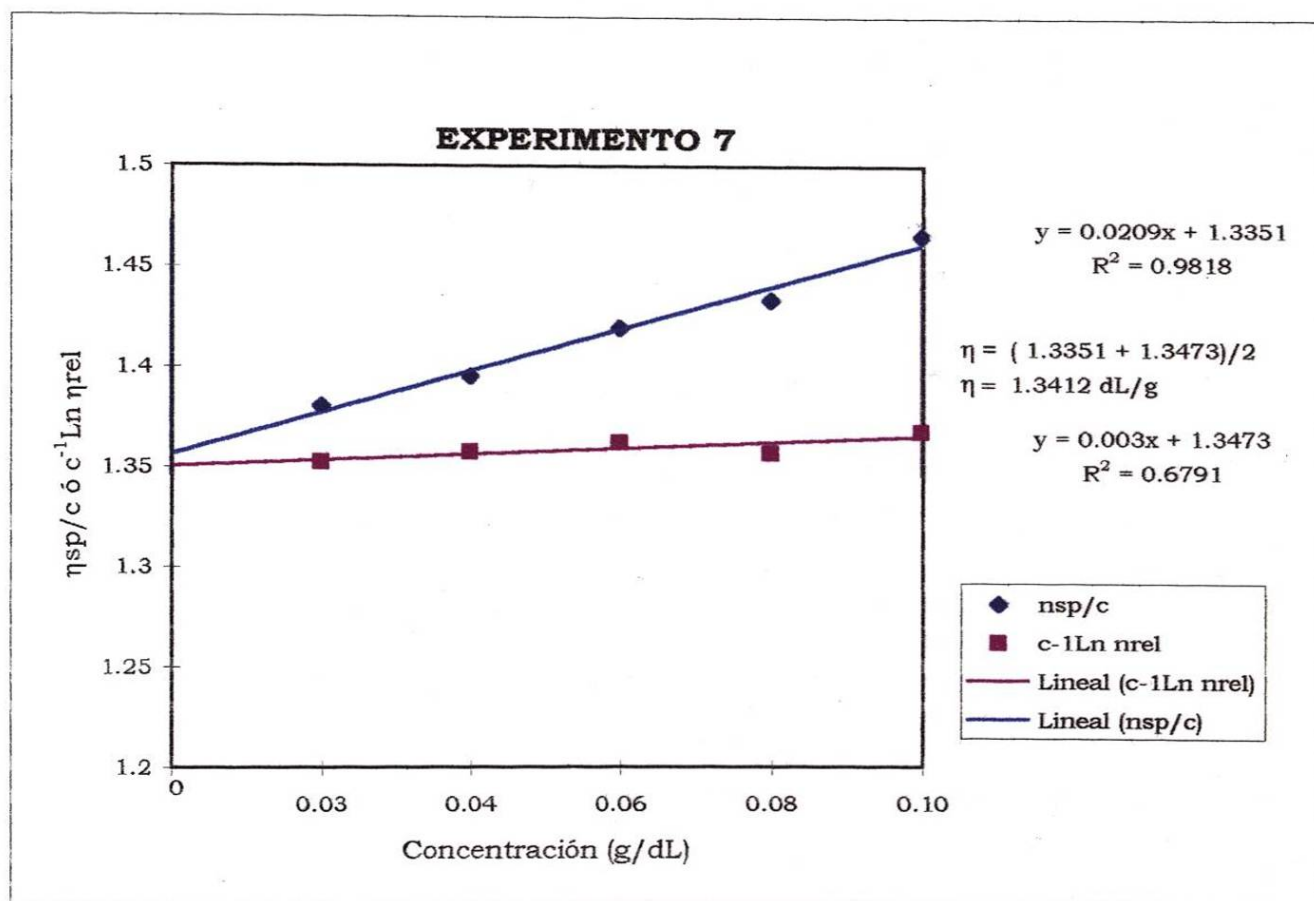
$\alpha = (-1.02 \times 10^{-2}) \times (D.D) + 1.82$  (5)

$K = 0.6547 \times 10^{-4} \text{ mL/g}$

$\alpha = 1.1325$

$\eta = 134.120 \text{ mL/g}$

$M = 374,017 \text{ g/mol}$



***APENDICE III***  
***Toxicidad de Reactivos***



## **Toxicidad de Reactivos<sup>(27,28)</sup>**

### **Acido clorhídrico**

CAS 7647-01-0

#### Apariencia y Olor:

Líquido incoloro ó ligeramente amarillo, fumante y picante

#### Riesgos: R34-37

La inhalación puede causar tos, dificultad para respirar, edema pulmonar, daño en el tracto respiratorio, el líquido causa quemaduras en ojos y piel, la ingestión causa nauseas, vomito y quemaduras en boca y estómago.

#### Medidas de seguridad: S26-36/37/39-45

En caso de contacto en ojos lávense inmediatamente con abundante agua, úsense guantes adecuados y lentes de seguridad, acúdase a un médico inmediatamente.

#### Límite de Exposición:

5ppm

### **Acido acético**

CAS 64-19-7

#### Apariencia y Olor:

Líquido incoloro, olor picante

#### Riesgos: R10-35

La inhalación puede causar irritación en las vías respiratorias, neumonía, bronquitis, el líquido causa quemaduras, riesgo de turbidez en las corneas, quemaduras en las mucosas y estómago por ingestión.

#### Medidas de seguridad: S23-26-36/37/39-45

No respirar los vapores, en caso de contacto en ojos lávense inmediatamente con abundante agua, úsense guantes adecuados y lentes de seguridad, acúdase a un médico inmediatamente.

#### Límite de Exposición:

25 ppm

### **Metanol**

CAS 67-56-1

#### Apariencia y Olor:

Líquido incoloro con olor aromático

**Riesgos:** R11-23/25

La inhalación puede causar dolor de cabeza, náusea, somnolencia, desmayos, sofocación, baja presión, el líquido puede causar irritación en ojos y piel y la exposición prolongada causa dermatitis, la ingestión causa diarrea, vómito, irritación gastrointestinal.

**Medidas de seguridad:** S7-16-24-45

No respirar los vapores, en caso de contacto en ojos lávense inmediatamente con abundante agua, úsense guantes adecuados y lentes de seguridad.

**Límite de Exposición:**

200ppm

**Acetato de sodio**

CAS 127-09-3

**Apariencia y Olor:**

Sólido blanco, inodoro

**Riesgos:** R 25-36/38

La inhalación puede causar trastornos gastrointestinales, causa leves irritaciones tanto en la piel como en los ojos.

**Medidas de seguridad:** S22

No inhalar el polvo, evitar la formación de polvo.

**Acido láctico**

CAS 50-21-5

**Apariencia y Olor:**

Líquido incoloro, inodoro

**Riesgos:** R36/38

Causa irritación en ojos y piel

**Medidas de seguridad:** S23-26-36/37/39-45

No respirar los gases, humos, vapores y aerosoles, en caso de contacto en los ojos lávense inmediatamente y con abundante agua, úsense guantes y protección en ojos y cara, en caso de malestar acúdase a un médico inmediatamente

**Límite de Exposición:**

No reportado

**Acido cítrico**

CAS 5949-29-1

Apariencia y Olor:

Sólido blanco, inodoro

Riesgos: R25-36/37/38

La inhalación puede causar irritación del estómago; tos, dolores, vómito con sangre, causa leves irritaciones en vías respiratorias, en ojos y piel.

Medidas de seguridad: S22-24/25

Evitar la formación de polvo, no inhalar el polvo y evitar el contacto con la sustancia.

**Acido adípico**

CAS 124-04-9

Apariencia y Olor:

Sólido blanco, inodoro.

Riesgos: R 36

En caso de contacto en ojos causa irritación.

Medidas de seguridad: S25-26

Evítese el contacto con los ojos, en caso de contacto lávense inmediatamente y con abundante agua, acúdase a un médico inmediatamente.

**Acido propiónico**

CAS 79-09-4

Apariencia y Olor:

Líquido incoloro, olor desagradable

Riesgos: R 34

La inhalación puede causar irritación de las mucosas, tos y vómito, causa quemaduras en piel y ojos y por ingestión causa irritación en boca, garganta y tracto intestinal.

Medidas de seguridad: S23.2-36-45

No respirar vapores, usar indumentaria adecuada, en caso de accidente acudir inmediatamente al médico.

Límite de Exposición:

30 ppm

**Acido malónico**

CAS 141-82-2

Apariencia y Olor:

Cristales pequeños, inodoros

Riesgos: R 22-36

Nocivo por ingestión, causa irritación en los ojos.

Medidas de seguridad: S22-24

No respirar el polvo y evitar el contacto con la piel.

**Acido málico**

CAS 6915-15-7

Apariencia y Olor:

Sólido blanco, inodoro

Riesgos: R 36

En caso de contacto en ojos causa irritación.

Medidas de seguridad: S25-26

Evítese el contacto con los ojos, en caso de contacto lávense inmediatamente y con abundante agua, acúdase a un médico inmediatamente.

Límite de Exposición:

No reportado

**Acido fosfórico**

CAS 7664-38-2

Apariencia y Olor:

Líquido incoloro, inodoro.

Riesgos: R 34

La ingestión causa quemaduras, fuertes dolores, choc y espasmos, tras contacto con la piel causa efectos irritantes y caucásicos y en ojos causa conjuntivitis y quemaduras.

Medidas de seguridad: S26-36/37/39-45

En caso de contacto en ojos lávense inmediatamente con abundante agua, úsense guantes adecuados y lentes de seguridad, acúdase a un médico inmediatamente.

**Acido sulfúrico**

CAS 7664-93-9

Apariencia y Olor:

Líquido incoloro, inodoro

Riesgos: R35

La ingestión puede causar vómito, diarrea, fuerte dolor, por contacto en piel y ojos causa graves quemaduras y lesiones en corneas.

Medidas de seguridad: S26-30-45

En caso de contacto con los ojos, lávense inmediatamente y con abundante agua, no echar jamás agua a este producto y en caso de accidente acudir a un médico inmediatamente.

Límite de Exposición:

1 ppm

**Acido nítrico**

CAS 7697-37-2

Apariencia y Olor:

Líquido incoloro, olor picante

Riesgos: R35

La ingestión puede causar vómito, diarrea, fuerte dolor, por contacto en piel y ojos causa graves quemaduras y lesiones en corneas.

Medidas de seguridad: S23.2-26-36/37/39/45

No respirar los vapores, en caso de contacto en los ojos lávense inmediatamente y con abundante agua, úsese guantes y protección en ojos y cara, en caso de malestar acúdase a un médico inmediatamente.

Límite de Exposición:

5ppm

**Dicromato de potasio**

CAS 7778-50-9

Apariencia y Olor:

Sólido naranja, inodoro

Riesgos: R36/37/38-43

La inhalación puede causar irritaciones en vías respiratorias, tras contacto en la piel causa quemaduras y úlceras y en ojos causa quemaduras.

Medidas de seguridad: S22-28.1

No respirar el polvo, en caso de contacto con la piel, lávese inmediatamente y con abundante agua.

**Nitrato de mercurio**

CAS 7783-34-8

Apariencia y Olor:

Sólido blanco inodoro

Riesgos: R26/27/28-33

Muy tóxico por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel, peligro de efectos acumulativos.

Medidas de seguridad: S13-28.1-45

Mantener lejos de alimentos y bebidas, en caso de contacto con la piel lávese inmediatamente y con abundante agua, en caso de malestar acúdase a un médico inmediatamente.

Límite de Exposición:

No reportado

**Nitrato de plomo**

CAS 10099-74-8

Apariencia y Olor:

Sólido amarillo

Riesgos: R61-20/22-33

Riesgo durante el embarazo de efectos adversos para el feto, nocivo por inhalación y por ingestión y peligro de efectos acumulativos.

Medidas de seguridad: S45

En caso de accidente ó malestar, acúdase inmediatamente al médico.

Límite de Exposición:

No reportado

**Acido fórmico**

CAS 64-18-6

Apariencia y Olor:

Líquido incoloro olor picante

Riesgos: R35

El contacto con el líquido puede causar quemaduras.

**Medidas de seguridad:** S23.2-26-45

No respirar los vapores, en caso de contacto con los ojos, lávense inmediatamente con abundante agua y en caso de molestias acúdase a un médico inmediatamente.

**Límite de Exposición:**

No reportado

**Acido oxálico**

CAS 6153-56-6

**Apariencia y Olor:**

Sólido blanco, inodoro

**Riesgos:** R21/22

La ingestión puede causar irritaciones en las mucosas de la garganta, esófago y tracto respiratorio, por inhalación causa tos y dificultad para respirar, por contacto en la piel y ojos causa irritación y lesiones del tejido, se absorbe rápidamente y causa náusea, colapso y paro cardiovascular.

**Medidas de seguridad:** S22-24/25

Evitar la formación de polvo, no inhalar el polvo, evítese el contacto con los ojos y la piel.

**Acido tartárico**

CAS 87-69-4

**Apariencia y Olor:**

Sólido blanco e inodoro

**Riesgos:** R38

Causa irritación en la piel

**Medidas de seguridad:** S24

Evítese el contacto con la piel.

**Límite de Exposición:**

No reportado

**Hidróxido de sodio**

CAS 1310-73-2

**Apariencia y Olor:**

Sólido blanco con olor picante

**Riesgos: R35**

La ingestión puede causar quemaduras en boca, mucosa, esófago con riesgo de perforación, por contacto en ojos y piel causa quemaduras y necrosis.

**Medidas de seguridad: S26-37/39-45**

En caso de contacto con los ojos lávense con abundante agua inmediatamente y utilizar indumentaria y guantes adecuados y protección para ojos y cara, en caso de malestar acúdase aun médico inmediatamente.

**Límite de Exposición:**

2ppm



