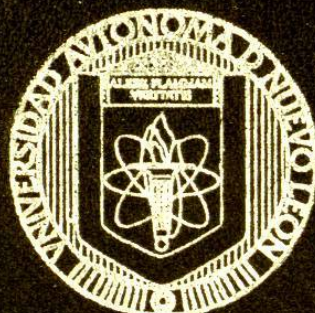


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



**ELABORACION DE COMPLEJOS POLIELECTROLITOS
A PARTIR DE QUITOSAN-PECTINA Y SU APLICACION
EN TECNOLOGIA AMBIENTAL**

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGIA**

POR

LB. RUBY YARISOL SALAZAR ALPUCHE

MONTERREY, N. L., DICIEMBRE 12 DEL 2001

TM

QD281

.P6

S2

2001

c.1



1080124323

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



ELABORACION DE COMPLEJOS POLIELECTROLITOS
A PARTIR DE QUITOSAN-PECTINA Y SU APLICACION
EN TECNOLOGIA AMBIENTAL

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGIA

POR

LB. RUBY YARISOL SALAZAR ALFUCHE

MONTERREY, N. L., DICIEMBRE 12 DEL 2001

TM

QD281

.P6

52

2001



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**ELABORACIÓN DE COMPLEJOS POLIELECTROLITOS A PARTIR
DE QUITOSAN-PECTINA Y SU APLICACIÓN EN TECNOLOGÍA
AMBIENTAL**

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
MICROBIOLOGIA
POR

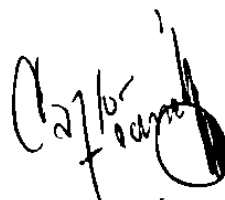
I.B. RUBY YARISOL SALAZAR ALPUCHE

APROBADA

COMISION DE TESIS



DRA. KATIUSHKA AREVALO NIÑO
DIRECTOR



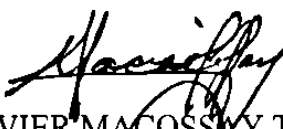
DR CARLOS E. HERNÁNDEZ LUNA
SECRETARIO



DR. LUIS J. GALÁN WONG
VOCAL



DR. SYED H. IMAM
*ASESOR EXTERNO
VOCAL*



DR. JAVIER MACOSSKY TORRES
*ASESOR EXTERNO
VOCAL*

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL Y DEL SUELO "DR. H. T. DULMAGE", DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E INMUNOLOGIA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, U.A.N.L. EN COLABORACIÓN CON LA UNIDAD DE BIOPOLÍMEROS DEL CENTRO NACIONAL PARA LA UTILIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN EN AGRICULTURA, ARS/USDA/NCAUR, PEORIA, ILLINOIS, EUA., BAJO LA DIRECCIÓN INTERNA DE LA DRA. KATIUSHKA ARÉVALO NIÑO (FCB/UANL) Y DIRECCIÓN EXTERNA DEL DR. SYED H. IMAM (ARS/USDA/NCAUR).

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
INTRODUCCION	4
IMPORTANCIA	7
HIPÓTESIS	9
OBJETIVO GENERAL	9
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
ANTECEDENTES	11
POLÍMEROS	11
POLIMEROS SINTETICOS.....	12
POLIMEROS NATURALES O BIOPOLÍMEROS.....	13
PROTEINAS.....	14
ÁCIDOS NUCLEICOS.....	14
POLISACÁRIDOS O CARBOHIDRATOS.....	15
PECTINA	16
ESTRUCTURA Y PROPIEDADES.....	16
PRODUCCIÓN DE PECTINA.....	19
APLICACIONES.....	21
DEGRADACIÓN DE LA PECTINA.....	23
QUITINA	24
QUITOSAN	25
ESTRUCTURA Y PROPIEDADES.....	25
PRODUCCION DE QUITINA Y QUITOSAN.....	28
APLICACIÓN.....	29
DEGRADACIÓN DEL QUITOSAN.....	34
POLIELECTROLITOS	35
CLASIFICACIÓN DE LOS POLIELECTROLITOS.....	37
COMPLEJOS DE POLIELECTROLITOS (CPE'S)	38
ELABORACIÓN DE COMPLEJOS POLIELECTROLITOS.....	41
MATERIAL Y METODOS	45
CARACTERIZACION Y OBTENCIÓN DE LOS POLIMEROS Y CPE's.. 45	
CARACTERIZACION DE LOS POLÍMEROS.....	45
Determinación de Humedad.....	46
Determinación de pH.....	46
Determinación de Grupos Inonizables.....	47
Determinación del pK de los polímeros.....	47
Determinación de pH óptimo de los polímeros.....	48
Determinación de la Viscosidad intrínseca.....	48

Determinación del Peso Molecular (PM)	50
Caracterización de los Polímeros por FTIR.....	50
OBTENCIÓN DE LOS CPE´s	51
Formulaciones para la obtención de los CPE´s.....	51
Preparación de las soluciones poliméricas.....	52
Formación del CPE	52
OPTIMIZACION DEL POLIMERO CATIONICO	53
APLICACIÓN DE LOS CPE'S EN TECNOLOGÍA AMBIENTAL.....	55
RETENCIÓN DE METALES PESADOS	55
Capacidad de Retención de metales del CPE a nivel Laboratorio.....	55
Preparación de las soluciones de Polielectrolitos y Metales Pesados.....	56
Capacidad de retención de metales para las formulación D3	56
Medición de Metales.....	59
RETENCIÓN DE SÓLIDOS.....	60
Elaboración de soluciones.....	60
Capacidad de retención de sólidos para las formulaciones B2,B3,D2 y D3...	61
Evaluación de la retención de sólidos.....	62
BIODEGRADACION DEL CPE SELECCIONADO.....	63
Prueba a nivel Laboratorio.....	63
Microorganismo	63
Mantenimiento de la Cepa	63
Inóculo	63
Preparación de las muestra.....	65
Determinación de Pérdida en Peso	66
Determinación de Crecimiento Bacteriano	67
<i>RESULTADOS</i>	<i>68</i>
CARACTERIZACION DE LOS POLIMEROS	68
OBTENCIÓN DE LOS CPE's.....	69
OPTIMIZACION DEL POLIMERO CATIONICO	70
APLICACIÓN DE LOS CPE'S EN TECNOLOGÍA AMBIENTAL.....	73
RETENCION DE METALES PESADOS	73
RETENCION DE SÓLIDOS.....	73
BIODEGRADACION DEL CPE SELECCIONADO.....	75
<i>DISCUSIÓN</i>	<i>104</i>
<i>CONCLUSIONES</i>	<i>112</i>
<i>RECOMENDACIONES</i>	<i>114</i>
<i>LITERATURA CITADA.....</i>	<i>116</i>

DEDICATORIA

A mis Padres:

Por que sin su amor yo no existiría, por que con su cariño y dedicación me impulsaron en mis estudios y deseos de superación. Por ser unos padres excelentes y consentidores, y un ejemplo del cual sentirme orgullosa por el resto de mi vida.

Los admiro y los quiero muchísimo.

A Roger, mi esposo:

Por que con tu amor , confianza y apoyo, he podido seguir y concluir este trabajo. Por que eres una persona a la que admiro por fijar y conseguir sus metas y querer que juntos lográramos la mía. Por tu comprensión y amor.

Te amo, hoy y siempre.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: Gracias Dios mío por todo lo que me has dado, un esposo, unos padres y uno hermanos a los que amo, pero gracias por permitirme lograr en este día esta meta que es de todos. Gracias por estar siempre conmigo y mi familia.

A LA DRA. KATIUSHKA ARÉVALO NIÑO: Por su confianza y apoyo al encomendarme este proyecto, el cual me dio la oportunidad de desarrollarme y formarme como investigador, por su dedicación y experiencia. Gracias por su amistad

A LOS MIEMBROS DEL COMITÉ DE TESIS: Por haberme ayudado en mi formación y así mismo por sus importantes contribuciones para el desarrollo de este trabajo.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA Y DEL SUELO: Por su paciencia, ayuda, consejos y por los momentos tan gratos que pasamos durante este trabajo. Dra. Lili, Erick, Miriam, Maestra Lucía Palacios, Carlos, Luly, Doris, Edna, Josue. Gracias

A MIS AMIGAS: Por que con su ayuda incondicional y paciencia me animaron a seguir adelante. Alma Ivonne Lechuga, Modesta Flores.

A CONACYT: Por el apoyo económico para la realización de este trabajo y mi formación en la investigación.

A MIS SUEGROS: Por su apoyo y confianza, para llevar a cabo esta meta.

A MIS HERMANOS : Por sus risas y bromas, pero sobre todo su comprensión y apoyo.

LISTA DE ABREVIATURAS

BaCl	Cloruro de Bario
°C	grados centígrados
cm	centímetros
cel	células
CPE	complejo polielectrolito
CPE's	complejos polielectrolitos
dl	decilitros
dls	dólares
EUA	Estados Unidos de América
FCB	Facultad de Ciencias Biológicas
g	gramos
GD	grado de desacetilación
GE	grado de esterificación
h	hora
HCl	ácido Clorhídrico
IRTF	Infrarrojo con transformadas de Fourier
Kg	kilogramo
l	litro
LD ₅₀	dosis letal media
ml	mililitro

min	minuto
mg	miligramo
M	molar
NaOH	Hidroxido de Sodio
PM	Peso Molecular
pH	logaritmo recíproco de la concentración de ion hidrógeno
r.p.m.	revoluciones por minuto
t	tiempo
UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León
v/v	volumen a volumen

LISTA DE TABLAS

Figura No.	Título	Página
1	Propiedades Física de los Polímeros	75
2	Propiedades Químicas de los Polímeros, obtenidas por Titulación Potenciométrica.	75
3	Determinación de la Viscosidad Intrínseca de la Pectina.	77
4	Determinación de la Viscosidad Intrínseca del Quitosan.	77
5	Determinación del Peso Molecular del Quitosan utilizando la ecuación de Mark-Houink.	79
5 ^a	Determinación de la cantidad de Grupos Ionizables utilizando el Peso Molecular (P.M.) del Quitosan obtenido con la ecuación de Mark-Houink.	79
6	Resultados obtenidos en la formación de CPE de las formulaciones A,B,C, y D.	80
7	Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Húmedo (g) de las Formulaciones A,B,C y D.	82

8	Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Seco (g) de las Formulaciones A,B,C y D.	82
9	Rendimiento de CPE en Peso Húmedo y Seco (g) del Grupo de la Formulación B.	83
10	Rendimiento de CPE en Peso Húmedo y Seco (g) del Grupo de la Formulación D.	83
11	Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Húmedo (g) de las Formulaciones del Grupo B.	86
12	Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Seco (g) de las Formulaciones del Grupo B.	86
13	Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Húmedo (g) de las Formulaciones del Grupo D.	87
14	Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Seco (g) de las Formulaciones del Grupo D.	87
15	Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Húmedo (g) de las Formulaciones del Grupo B y D.	88

16	Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Seco (g) de las Formulaciones del Grupo B y D.	88
17	Retención de Metales Pesados por el CPE D3 a una Temperatura de 25°C.	89
18	Retención de Metales Pesados por el CPE D3 a una Temperatura de 25°C.	90
19	Retención de Metales Pesados por el CPE D3 a una Temperatura de 35°C.	91
20	Retención de Metales Pesados por el CPE D3 a una Temperatura de 35°C.	92
21	Formación del CPE y Retención de Sólidos (g) en lodos provenientes de Aguas Residuales.	95
22	Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para las Formulaciones Elaboradas en Lodos Provenientes de Aguas Residuales.	95

LISTA DE FIGURAS

Tabla No.	Título	Página
1	Curva de Titulación Potenciométrica de la pectina	76
2	Curva de Titulación Potenciométrica del quitosan.	76
3	Gráfico para la determinación de la Viscosidad Intrínseca de la Pectina,	78
4	Gráfico para la determinación de la Viscosidad Intrínseca del Quitosan.	78
5	Espectro de Infrarrojo de la Pectina	79
6	Espectro de Infrarrojo de Quitosan	79
7 a , b	Complejo Polielectrolito obtenidos a partir de Quitosan-Pectina.	80
8	Rendimiento en Peso Húmedo (g) del CPE de las Formulaciones A,B,C yD.	81
9	Rendimiento en Peso Seco (g) del CPE de las Formulaciones A,B,C y D.	81
10	Rendimiento en Peso Húmedo (g) del CPE del Grupo de la Formulación B.	84
11	Rendimiento en Peso Seco (g) del CPE del Grupo de la Formulación B	84

12	Rendimiento en Peso Húmedo (g) del CPE del Grupo de la Formulación D.	85
13	Rendimiento en Peso Seco (g) del CPE del Grupo de la Formulación D	85
14	Retención de Zn a diferentes pH's y Temperaturas de la solución del metal.	93
15	Retención de Ni a diferentes pH's y Temperaturas de la solución del metal.	93
16	Retención de Ni a diferentes pH's y Temperaturas de la solución del metal.	94
17	Retención de Pb a diferentes pH's y Temperaturas de la solución del metal.	94
18 a,b,c y d	Lodos Provenientes de Plantas de Tratamiento de Aguas y su Tratamiento Ilustrativo con la Formulación de CPE's.	96 97
19	Porciento(%) de Perdida en Peso del CPE con respecto al peso inicial, después de 34 días de exposición a nivel laboratorio utilizando una cepa de <i>Serratia marscensens</i> .	98
20 a	Perdida en Peso del CPE en las diferentes fechas de muestreo.	99
20b	Perdida en Peso del CPE después de 34 días.	99

21	Número de células/ml de <i>Serratia marscensens</i> presentes en la muestra, en las diferentes fechas de colecta en el experimento a nivel laboratorio.	100
22a	Crecimiento de <i>Serratia marscensens</i> a los 7 días de la prueba de Biodegradación.	101
22b	Crecimiento de <i>Serratia marscensens</i> a los 14 días de la prueba de Biodegradación.	101

RESUMEN

En el presente trabajo nos propusimos llevar a cabo la elaboración de Complejos Polielectrolitos (CPE's) a partir de polímeros de origen natural. Para poder llevar a cabo dicho propósito se caracterizaron cada uno de los polímeros física y químicamente, utilizándose diversas técnicas entre ellas: titulación potenciométrica, con la cual se pudo determinar la cantidad de grupos ionizables disponibles por gramo de polímero para la formación del CPE, así mismo el pH óptimo y el pK para cada polielectrolito, obteniéndose los siguientes resultados para el quitosan y la pectina respectivamente: G.I. = $6.24 \cdot 10^{-3}$, pHo = 3.8 y pK = 6; G.I. = $8.1 \cdot 10^{-4}$, pHo = 7.6 y pK = 3.9.

Dentro de la caracterización de los polímeros se determinó la viscosidad intrínseca siendo ésta de: 110ml/g para la pectina y 169.5ml/g para el quitosan, en el caso de éste polímero dicho valor fue utilizado en la determinación de EL PM el cual fue de 82,985 dalton. La caracterización molecular de los polímeros fue llevada a cabo por espectrofotometría de infrarrojo, la cual nos permitió observar las bandas características de cada polímero.

Se prepararon 4 formulaciones para la elaboración de los CPE's con los resultados obtenidos de la caracterización química. Las formulaciones elaboradas se llevaron a cabo por triplicado y el rendimiento en la formación del CPE fue medido en peso húmedo y peso seco promedio; los resultados de las formulaciones fueron analizados estadísticamente y seleccionadas 2 de ellas, posteriormente se procedió a optimizar el polímero catiónico obteniéndose mejores resultados para con la formulación D.

Las pruebas a nivel laboratorio de la capacidad de retención de metales pesado como: Pb, Cu, Ni y Zn en soluciones a 30 p.p.m., 3 diferentes pH's y 2 temperaturas, tuvieron como resultado una remoción del 62, 75.3, 70.1, 86.9% respectivamente.

Para la remoción de sólidos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales se utilizaron 4 diferentes formulaciones las cuales fueron evaluadas estadísticamente por su rendimiento y seleccionada la formulación con mayor remoción de sólidos.

La biodegradación del CPE fue probada a nivel laboratorio utilizando una cepa de *Serratia marscensens*, los parámetros que se midieron fueron pérdida en peso y cuenta viable en placa, para los cuales el CPE presento un 80% de pérdida en peso a los 34 días y un incremento en el número de microorganismos a los 7 días de muestreo. Dichos resultados indicaron que el CPE posiblemente estaba siendo utilizado como fuente de carbono por dichos microorganismos.