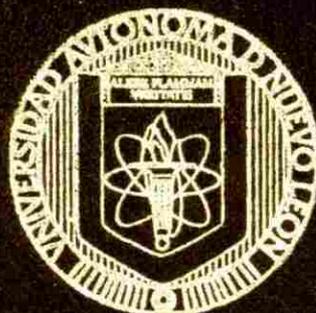


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

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

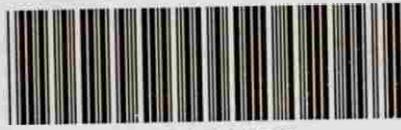
QD281

.P6

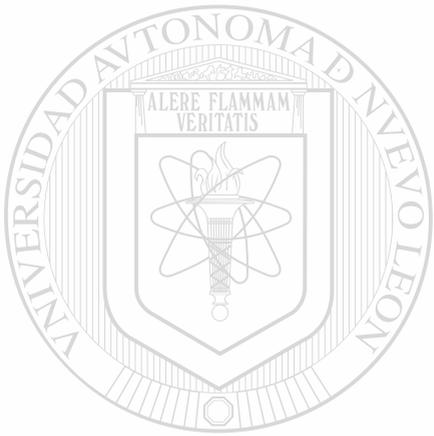
S2

2001

c.1



1080124323



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

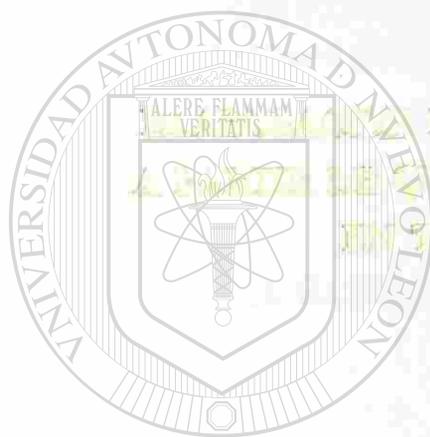
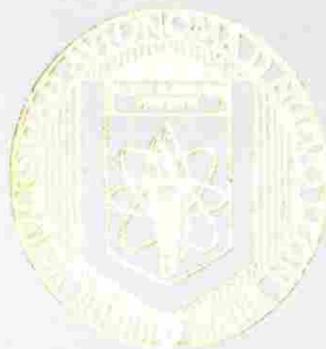
®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



EL EQUILIBRIO POLIELECTROLÍTICO
DE LOS POLÍMEROS NATURALES Y SU APLICACIÓN
EN TECNOLOGÍA AMBIENTAL

UANL
TESIS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA

DIRECCIÓN GENERAL DE MAESTRÍA EN CIENCIAS

CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGÍA

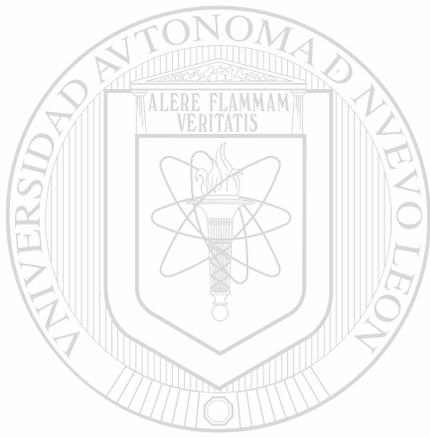
POR

DR. HIRY YARISOL SALAZAR ALFUCHE

REVISADO POR: R. L., DICIEMBRE 12 DEL 2001



TM
QD281
.P6
52
2001



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



**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

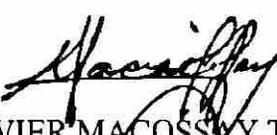
COMISION DE TESIS

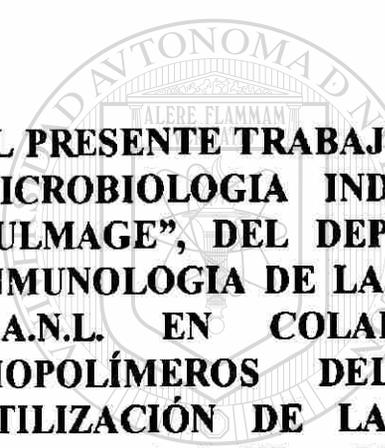

DRA. KATTUSHKA AREVALO NIÑO
DIRECTOR


DR CARLOS E. HERNÁNDEZ LUNA
SECRETARIO


DR. LUIS J. GALÁN WONG
VOCAL


DR. SYED H. IMAM
ASESOR EXTERNO
VOCAL


DR. JAVIER MACOSSY 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).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

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>	68
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
RETENCIÓN DE METALES PESADOS	73
RETENCIÓN DE SÓLIDOS.....	73
BIODEGRADACION DEL CPE SELECCIONADO.....	75
<i>DISCUSIÓN</i>	104
<i>CONCLUSIONES</i>	112
<i>RECOMENDACIONES</i>	114
<i>LITERATURA CITADA.....</i>	116

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.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

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

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

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

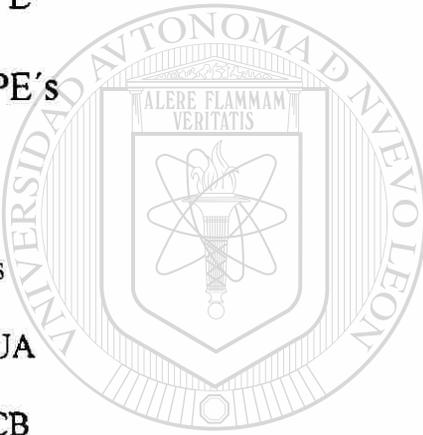
A CONACYT: Por el apoyo económico para la realización de este trabajo y mi formación en la investigación.

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



UJANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

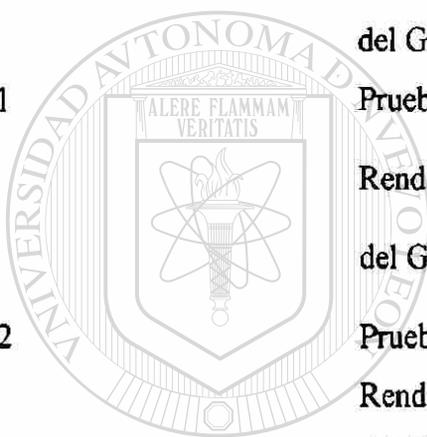
min	minuto
mg	miligramo
M	molar
NaOH	Hidroxido de Sodio
PM	Peso Molecular
pH	logaritmo recíproco de la concentración de ion hidrógeno
r.p.m.	revoluciones por minuto
t	tiempo
UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León
v/v	volumen a volumen

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN[®]
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

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

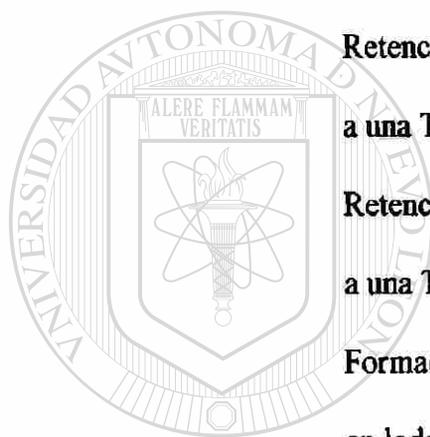


U A N L

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

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



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



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



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



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 quitosán 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: 110 ml/g para la pectina y 169.5 ml/g para el quitosán, 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 presentó 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.

INTRODUCCION

Algunos de los problemas más alarmantes a los que hoy se enfrenta la humanidad son los desastres ecológicos y el deterioro del medio ambiente por la eliminación de desechos tóxicos hacia nuestros mares y suelos, así como la utilización excesiva de recursos no renovables como el petróleo para la producción de plásticos y combustibles, todo esto debido a los grandes avances en la tecnología y a un rápido incremento en la población.

Pero ¿qué solución se le podría proporcionar a dicha problemática? si el crecimiento de la humanidad y sus necesidades de vivienda, así mismo de trabajo y alimentación han aumentado drásticamente y con ello los niveles en la producción de residuos entre los cuales se encuentra una cantidad muy significativa en lo que a plásticos, metales pesados y lodos provenientes de plantas de aguas residuales se refiere.

En México la producción de residuos es heterogénea, el tipo de residuos que se generan en toda la localidad, depende entre otros factores, de su ubicación, así como del nivel socioeconómico de la misma. De esta forma el territorio nacional, para el sector de los residuos sólidos se ha dividido en cinco zonas: fronteriza, norte, centro, Distrito Federal y sureste. La zona con mayor generación de residuos es la centro, alcanzando el 43% del total generado.

Para 1992, la generación a nivel nacional de residuos sólidos se estimó en 60,185 ton/día, aumentando en 4% con respecto al año anterior, del total de residuos generados el 40% se estiman como residuos no biodegradables. De continuar con esta

tendencia se estimó que para el año 2000 se generarían 83,537 ton/día de residuos sólidos. (The World Bank y Secretaría de Desarrollo Social, 1994) .

Por lo anterior, actualmente se trabaja en el aprovechamiento de polímeros biodegradables tanto de origen sintético como de fuentes renovables y gran abundancia en el mundo, tal es el caso del almidón, celulosa, pectina, quitina y quitosan a los cuales se les ha estado buscando aplicación en diversas áreas biotecnológicas. Los polímeros biodegradables son aquellos productos que contienen materiales que facilitan y potencian los procesos de foto y biodegradación. La biodegradación es el rompimiento de materiales por la acción de organismos vivos. Para la biodegradación de los polímeros los organismos más importantes son las bacterias hongos y actinomicetos (Maddever & Chapman, 1989).

Los polímeros biodegradables como son los polisacáridos pueden ser obtenidos de diversas fuentes como los microorganismos, plantas y animales.

Algunos ejemplos de polisacáridos de origen microbiano son las dextranas y xantanas las cuales son de gran utilidad hoy en día en la industria de los alimentos entre otras; por otro lado entre los polisacáridos cuyo origen son las plantas encontramos al ácido alginico, celulosa, almidón, pectina, goma arábica etc. Así mismo existen polímeros naturales de origen animal como la heparina, glucógeno y quitina.

Por otro lado una de las posibles aplicaciones para dichos polímeros es el desarrollo de complejos polielectrolitos o polisales (CPE's: son formados cuando macromoléculas de cargas opuestas son dejadas a interactuar) los cuales no han sido totalmente investigados teniéndose poca información sobre ellos y sus posibles aplicaciones.

En el presente trabajo decidimos llevar a cabo la producción de CPE's a partir de pectina y quitosan que son consideradas fuentes renovables y abundantes en nuestro país.

La pectina es un es un polímero natural de ácido D-galacturónico y éster metílico de ac. D-galacturónico, el cual es obtenido como subproducto de la industrialización de la manzana y el limón (Walter, 1991) este polímero se puede encontrar cargado negativamente debido a la presencia de grupos carboxilos en su cadena molecular por lo cual es considerado como un polielectrolito aniónico capaz de captar metales pesados (Endress, 1998).

El quitosan es un copolímero que se obtiene como resultado de la desacetilación de la quitina la cual es obtenida a partir del caparazón de cangrejo y camarón. El quitosan es un copolímero de N-acetilglucosamina y N-glucosamina lo cual le confiere la posibilidad de estar cargado positivamente como un polielectrolito catiónico. (Dinesh y Alok, 2000).

Por lo anterior esperamos obtener un CPE con buenas características químicas y además que sea biodegradable, para su aplicación en Tecnología ambiental.

IMPORTANCIA

En la actualidad se reconoce a México como uno de los principales exportadores y empaques de productos del mar, entre los productos que sobresalen se encuentran el camarón y la langosta. Las empresas empacadoras de estos dos productos desechan toneladas de caparazón como producto no útil ó contaminante, ignorando que en este desecho se encuentra una fuente rica en quitina, y del cual puede ser obtenido el quitosan; en nuestro país hoy en día no se encuentra ninguna industria que le esté otorgando algún uso a estos desechos debido a que no se les ha planteado alguna aplicación para la rentabilidad de la obtención de la quitina y el quitosan.

Una problemática similar se presenta para la producción de la pectina, la cual es obtenida a partir de subproductos de la industrialización de la manzana y la naranja, en México estos subproductos son considerados un desperdicio y no una fuente potencial en el área biotecnológica.

Por lo cual nosotros proponemos a demás de ayudar a eliminar grandes volúmenes de desechos tanto de la industria pesquera como jugüera, obtener productos que puedan ayudar a resolver la problemática ambiental ocasionada por contaminación con metales pesados y en el tratamiento de aguas residuales, esto es debido a las propiedades que presentan estos polímeros (catiónico y aniónico), las cuales pensamos se verían favorecidas al desarrollarse un CPE entre ambos polímeros.

Lo novedoso de este proyecto es que se obtendrían Complejos polielectrolitos(CPE's) biodegradables que tuvieran su aplicación en tecnología

ambiental y que a demás fueran provenientes de recursos naturales no explotados en su totalidad, así como abundantes en nuestro país, como son la pectina y el quitosan los cuales tienen un menor costo que otros biopolímeros como: Polihidroxitirato, Polihidroxiclato y Alcohol polivinílico.

No hay reportes del uso de estos polisacáridos en forma de CPE's y de su aplicación en Tecnología ambiental.

En base a la problemática antes planteada se propuso la siguiente hipótesis y los siguientes objetivos para el presente trabajo.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

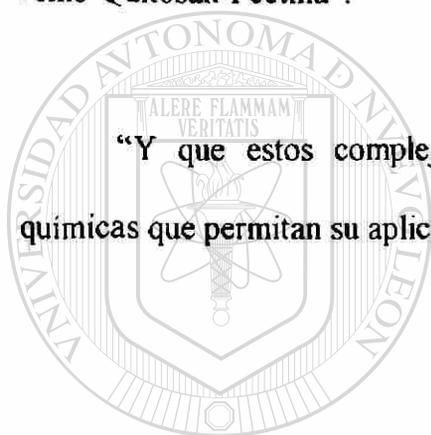
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



HIPÓTESIS

“Es posible la obtención de complejos polielectrolitos utilizando polisacáridos como Quitosan-Pectina”.

“Y que estos complejos polielectrolitos presenten propiedades físicas y químicas que permitan su aplicación en Tecnología Ambiental”.



UANL

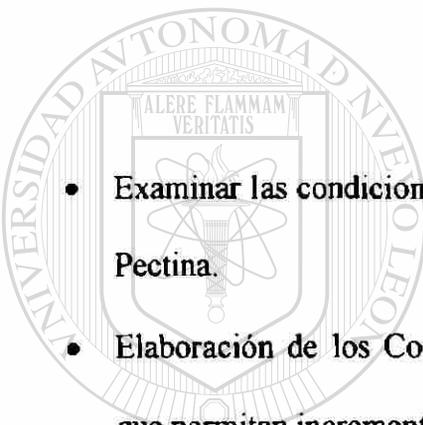
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN **OBJETIVO GENERAL** BIBLIOTECAS

Elaboración de Complejos Polielectrolitos (CPE's) a partir de Polímeros Biodegradables.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 
- Examinar las condiciones que favorecen la formación del complejo Quitosan-Pectina.
 - Elaboración de los Complejos Polielectrolitos (CPE's) bajo las condiciones que permitan incrementar los rendimientos del mismo.

-
- Medir las propiedades químicas del Complejo Polielectrolito para su aplicación en Tecnología ambiental.
 - Estudiar la velocidad y lo extenso de la degradación del CPE en el laboratorio utilizando *Serratia marcescens*.

ANTECEDENTES

POLÍMEROS

El término polímero (del griego *polys*, “muchos”, y *meros*, “partes”) para denotar las sustancias moleculares de alta masa molecular formadas por la polimerización (unión) de monómeros, moléculas de baja masa molecular.

Los polímeros, como cualquier otro compuesto orgánico, pueden tener grupos funcionales y carbonos quirales. Pueden formar puentes de hidrógeno y experimentar interacciones dipolo-dipolo. A la composición química de una cadena polimérica, se le denomina *estructura primaria*. La disposición de la cadena en relación a sí misma

y a otras cadenas, se denomina *estructura secundaria*. Esta estructura secundaria, puede ser tan importante para determinar las propiedades de un polímero como su composición química.

Los polímeros pueden clasificarse en dos grandes grupos de acuerdo a su origen:

- 1) *Polímeros Naturales o Biopolímeros*
- 2) *Polímeros Sintéticos* (Brown et al, 1998; Fessenden y Fessenden, 1983).

Los polímeros pueden ser clasificados de acuerdo a su uso final:

- 1) *Elastómeros*, son aquellos polímeros que tienen una masa de cadenas continuas o cadenas ramificadas enredadas. El resultado es un sólido suave y amorfo tal como el hule blando, el cual tiene propiedades elásticas.

Los polímeros que presentan cadenas continuas que se mantienen juntas por enlaces de hidrógeno o por otras atracciones dipolo-dipolo, son:

2) *Fibras*, polímeros que se pueden utilizar para tejido, como el algodón, la seda o el nylon.

3) *Plásticos*, que pueden ser hojas delgadas (envolturas para la cocina), sólidos duros y moldeables (tubería, juguetes para niños), o revestimiento (acabado de coches, barnices).

POLIMEROS SINTETICOS

Durante los últimos 60 años, aproximadamente, los químicos han aprendido a crear polímeros sintéticos polimerizando monómeros mediante reacciones químicas controladas.

Los polímeros hechos por el hombre son casi tan variados como los polímeros naturales. En la actualidad usamos ropa de poliéster, nos sentamos en sillas de vinilo y escribimos sobre mesas de formica, además de poder adquirir alfombras hechas de poliéster o polipropileno a un menor costo que las elaboradas con fibras naturales; un gran número de cosas que usamos y que son indispensables hoy en día están elaboradas a partir de polímeros sintéticos.

Muchos de estos polímeros sintéticos tienen su columna vertebral en los enlaces carbono-carbono. Los átomos de carbono tienen una capacidad excepcional para formar enlaces fuertes y estables entre sí.

Un polímero está hecho de miles de pequeñas unidades repetidas: los monómeros. En una reacción de polimerización, los primeros productos son los

dímeros (dos partes), después los trímeros, los tetrámeros, y finalmente, después de una serie de pasos de reacción los polímeros.

El ejemplo más sencillo de reacción de polimerización es la formación de polietileno a partir de moléculas de etileno. En esta reacción, el doble enlace de cada molécula de etileno “se abre”, y dos de los electrones que originalmente participaban en el enlace se utilizan para formar nuevos enlaces sencillos C-C con otras dos moléculas de etileno. La polimerización que ocurre gracias al acoplamiento de monómeros utilizando sus enlaces múltiples se denomina *polimerización por adición*. Existe otra reacción para sintetizar polímeros de importancia comercial y es por medio de la *polimerización por condensación* en la cual dos moléculas se unen para formar una molécula más grande por eliminación de una molécula pequeña, como H₂O. (Brown et al, 1998; Fessenden y Fessenden, 1983).

Desde hace varias décadas se ha estado trabajando en la obtención y uso de polímero sintéticos.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS
POLÍMEROS NATURALES O BIOPOLÍMEROS

Los polímeros naturales pueden clasificarse en tres categorías:

- 1) Proteínas (tales como la seda, las fibras de los músculos y las enzimas).
- 2) Ácidos nucleicos.
- 3) Polisacáridos (pectina, quitina, quitosan, almidón, celulosa, etc) (Brown et al, 1998)

PROTEINAS

Las proteínas son sustancias macromoleculares presentes en todas las células vivas. Alrededor del 50 % del peso seco del cuerpo humano se compone de proteínas. Las proteínas son los componentes estructurales principales de los tejidos animales; son parte fundamental de la piel, uñas, cartilagos y músculos. Otras proteínas catalizan reacciones, transportan oxígeno, sirven como hormonas para regular procesos corporales específicos y llevan a cabo otras tareas. Todas las proteínas se componen de los mismos bloques básicos de construcción, llamados *amino ácidos* (Brown et al, 1998).

ÁCIDOS NUCLEICOS

Los *ácidos nucleicos* son una clase de biopolímeros que son los portadores químicos de la información genética de un organismo. Los ácidos desoxirribonucleicos (ADN o DNA) son moléculas enormes cuyo peso molecular (PM) puede ir desde 6 hasta 16 millones de uma. Los ácidos ribonucleicos (ARN o RNA) son moléculas más pequeñas con PM del orden de 20,000 a 40,000 uma.

Los monómeros de los ácidos nucleicos, llamados *nucleótidos*. (Brown et al, 1998)

POLISACÁRIDOS O CARBOHIDRATOS

Carbohidratos son una clase importante de sustancias naturales que se encuentran en la materia tanto vegetal como animal. El nombre *carbohidrato* (hidrato de carbono) proviene de las fórmulas empíricas de casi todas las sustancias de esta clase; se pueden escribir como $C_x (H_2O)_y$.

Los polisacáridos están formados por la unión de muchos monosacáridos, de 11 a cientos de miles. Sus enlaces son O-glucosídicos con pérdida de una molécula de agua por enlace. Estos polímeros pueden ser producidos por microorganismos (xantanas y dextranas), por plantas (ácido alginico, goma arábica, celulosa, almidón), por mamíferos y crustáceos (heparina, glicógeno, quitina). Los polisacáridos mas importantes son el almidón, el glucógeno y la celulosa, que están formados de unidades de glucosa que se repiten.

Los polisacáridos también llamados *glucanos*, difieren en la naturaleza por sus unidades monosacáridas repetidas, la longitud de sus cadenas y el grado de ramificación.

Por lo cual estos polímeros pueden ser agrupados en:

- Homopolisacáridos: constituidos por un solo tipo de unidad monomérica.
Unidos por enlace α tenemos el almidón y el glucógeno.
Unidos por enlace β tenemos la celulosa y la quitina.
- Heteropolisacárido: esta clase de polímeros están formados por mas de un tipo de monosacárido.

Unidos por enlace α tenemos a la pectina, goma arábica y el agar.

Las funciones biológicas de los polisacáridos pueden ser de 2 tipos:

1.-Reserva energética (enlace α -Glucosídico).

Como el almidón, el glucógeno y pectina (plantas)

2.-Estructurales (enlace β -Glucosídico).

Como la quitina (insectos) y celulosa.

Los polisacáridos estructurales sirven esencialmente de elementos estructurales en las paredes y en las cubiertas de las células, en los espacios intercelulares y en el tejido conjuntivo, en donde dan forma y confieren elasticidad o rigidez a los tejidos animales y vegetales, así como protección y soporte a los organismos unicelulares.

De igual forma los polisacáridos se encuentran constituyendo los compuestos principales del exoesqueleto de muchos invertebrados. Por ejemplo, el polisacárido quitina, que es un homopolímero de N-acetil-D-glucosamina, con enlaces β (1-4), es el elemento orgánico principal en el exoesqueleto de los insectos y de los crustáceos (Lehninger, 1991).

PECTINA

ESTRUCTURA Y PROPIEDADES

La pectina es un polisacárido el cual se encuentra presente en la pared celular de los tejidos de las plantas. Las sustancias pécticas presentes en este polisacárido

contribuyen a la adhesión entre las células y la fuerza mecánica de la pared celular, conducta presentada en la manera como estabiliza los geles.

La pectina es un heteropolímero lineal cuyo componente principal de su estructura es el ácido D-galacturónico, los cuales se encuentran unidos por enlaces $\alpha(1-4)$ glucosídico; éste polímero presenta cantidades variables de L-ramnosa, D-galactosa, L-arabinosa, y ocasionalmente trazas de otras unidades de azúcar. (Fogarty y Ward, 1972).

La Pectina presenta cerca del 75% de sus grupos carboxilos esterificados con metanol ver Figura 1 (Whitaker, 1994).

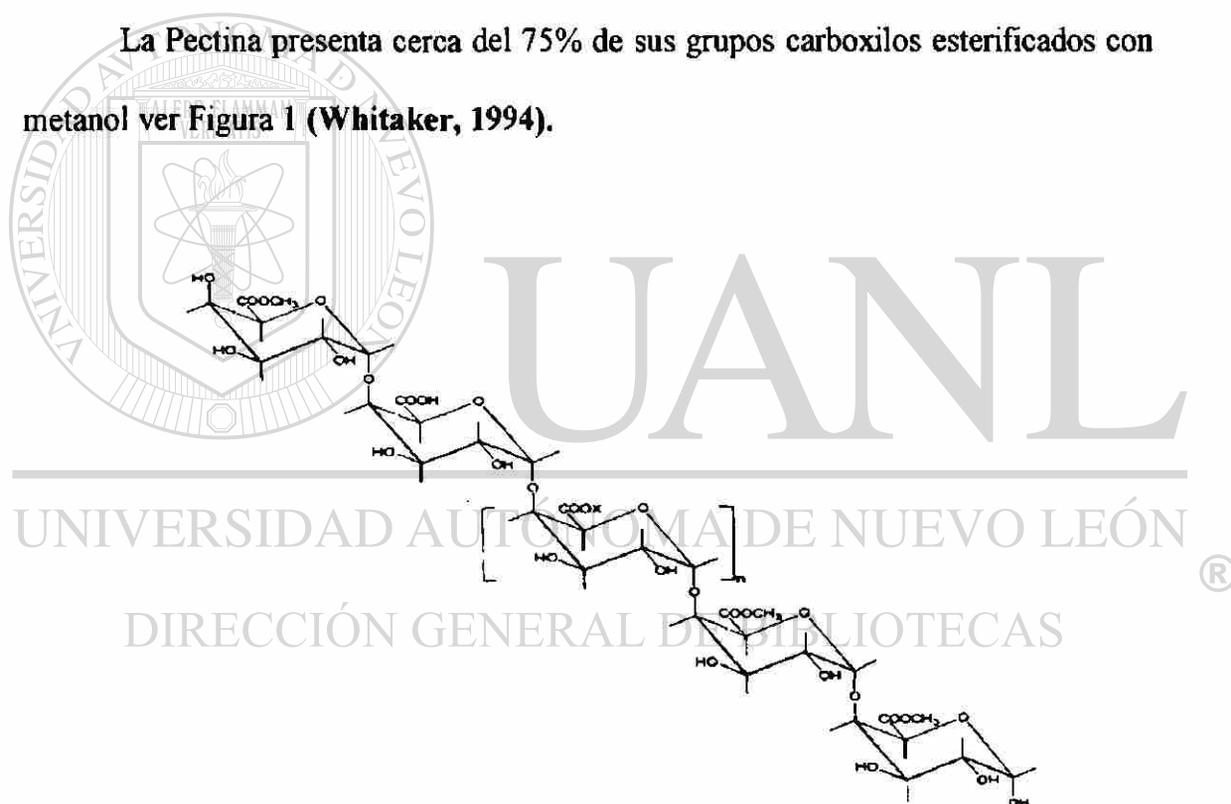


Figura 1. Estructura de la Pectina. X es el H o CH_3 , con 75% de grupos carboxilos esterificados con metanol.

Por otro lado, dependiendo del grado de esterificación (GE) la pectina puede ser caracterizada en:

Pectina de baja esterificación (PBE), en este tipo de pectinas, las unidades de ácido galacturónico tienen un 50% de grupos carboxilos esterificados con metanol.

Pectina con alto grado de esterificación (PAE), dichas pectinas tienen presente una gran cantidad de grupos carboxilos esterificados con metanol en las unidades de ácido galacturónico, aproximadamente 70% o más.

Dentro de las propiedades que presenta la pectina se encuentra la solubilidad en agua e insolubilidad en solventes orgánicos como el formaldehído. La solubilidad en agua de la pectina es determinada por el número de grupos metoxil, su distribución y peso molecular (PM). Generalmente la solubilidad se incrementa con la disminución del PM y con el incremento de grupos metil-esteres; sin embargo el pH, temperatura, tipo y concentración de sales presentes juegan un papel muy importante en la solubilidad.

La pectina en polvo al adicionársele agua tiende a hidratarse muy rápido y a permanecer como un cúmulo de partículas parcialmente hidratadas y suspendidas que son difíciles de disolver; por lo cual la pectina requiere ser incorporada de manera lenta y con una rápida agitación.

Una propiedad importante que presentan las soluciones de pectina son la viscosidad, la cual está relacionada con el PM y el grado de esterificación, la concentración, pH y la composición de la solución.

Se ha reportado que la adición de sales de cationes monovalentes, como el cloruro de sodio (NaCl) a soluciones de pectina causa la reducción en la viscosidad; este efecto es más pronunciado con las soluciones de PBE.

Para que la pectina se mantenga estable se requiere de condiciones mas o menos ácidas y temperaturas normales, debido a que a temperaturas altas y condiciones muy ácidas sufre una despolimerización. Pero si se controla la temperatura, pH y el tiempo de reacción, es posible producir ácido péctico debido a que la pectina sufre una desesterificación y solo una ligera despolimerización. El ácido péctico es una pectina en la cual se han eliminado la mayor cantidad de grupos metoxilos.

Una propiedad de la pectina a la cual se le ha encontrado su aplicación principalmente en la industria de los alimentos, es su capacidad de formar geles en presencia de agentes deshidratantes a un pH cercano a 3 o en presencia de iones de calcio.

La formación de geles de pectina, se produce cuando las cadenas de pectinas que originalmente se encuentran altamente hidratadas por moléculas de agua sufren una deshidratación al ser reemplazadas las moléculas de agua con moléculas de soluto.

Los geles que se obtienen y la naturaleza de los mismos dependen principalmente de el grado de polimerización y el grado de metilación. Bajo condiciones similares, el grado de gelación de un gel de pectina es generalmente proporcional al PM y es inversamente proporcional al grado de esterificación (Towle y Christensen, 1980).

PRODUCCIÓN DE PECTINA

El principal material de desecho para la obtención de la pectina hoy en día es la cáscara de los cítricos, preferentemente la del limón, aunque la cáscara de la

toronja, lima y naranja también son utilizadas. La cáscara utilizada para la obtención de la pectina proviene de la industria jugüera. La cáscara después de la extracción del jugo contiene del 2-4% de pectina y en forma seca del 20-40%.

Otra fuente importante de pectina son los residuos obtenidos del proceso de extracción de jugo de la manzana, que de igual manera que la cáscara de cítricos puede ser usada de forma fresca o seca. El contenido de pectina en los residuos de manzana seca es del 10-20%.

Para el año 2000/01* México está considerado como uno de los principales productores de cítricos a nivel mundial, ocupando el quinto lugar con una producción de 4,594 toneladas, siendo la producción mundial de 87,952 toneladas (FAO,2001).

A nivel mundial en 1997 se produjeron 44.7 millones de toneladas de manzana, del total de esta producción China tiene el 41% siendo el principal productor a nivel mundial, en cuanto a México, éste producto únicamente es

producido en las regiones frías como son Durango y Chihuahua, y la producción asciende a 440,000 toneladas.

La producción en México de manzana y cítricos, es utilizada entre un 25-30% para uso industrial como lo son la industria jugüera, concentrados y sidra, siendo en ellas donde se concentran los desechos de las mismas (cáscara) y donde se encuentra el potencial de aplicación para obtener pectina.

Un fruto mexicano como lo es el tejocote, es reportado como una fuente para obtención de pectina con rendimientos equiparables al de la manzana (Monroy *et al*, 1990).

Por otro lado la producción de pectina está relacionada con las zonas donde se producen y procesan los cítricos y la manzana. California tiene gran cantidad de

industrias productoras de pectina proveniente de cítricos. En otros países como Inglaterra, Francia, Alemania y Suiza se obtiene pectina de la manzana.

Dentro de la producción de pectina podemos encontrar que se producen con diferentes grados de metoxilación.

La producción de pectina en 1971 fue de 8000 toneladas métricas de pectina de alta metoxilación y 1000 toneladas métricas de pectina de baja metoxilación, del total de la producción, Estados Unidos produjo entre 3000-3500 toneladas métricas y el resto fue producido por países de Europa. El costo aproximado por libra de pectina de alta metoxilación está entre 1.40 y 1.50 dollar, mientras que la pectina de baja metoxilación se encuentra en 2.00 dollar la libra. En Países como México constituyen un factor muchas veces considerado de contaminación del entorno ecológico debido a que no existe una explotación total de estos residuos, México cuenta con un alta producción citrícola. (Towle y Christensen).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
APLICACIONES

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

La pectina inicialmente fue producida comercialmente como un extracto líquido, actualmente se produce como un polvo refinado de alta pureza. Dicho producto se ha considerado siempre como un constituyente de los alimentos humanos.

La pectina es reconocida por la FAO como un aditivo seguro, el cual no tiene restricciones de uso si se tienen buenas practicas de manufactura.

La pectina es utilizada principalmente en la industria de los alimentos, para la elaboración de jaleas, mermeladas, jaleas instantáneas para pastelería, bebidas, cerezas artificiales, estabilizador de algunos productos lácteos y postres congelados.

Las aplicaciones mas recientes son en la industria farmacéutica donde la pectina a jugado un rol muy importante. Hoy en día la clásica aplicación de la pectina es en el tratamientos para la diarrea, muchos productos han incorporado a la pectina como principal ingrediente para el tratamiento de este padecimiento, la forma de administración es vía oral. La pectina administrada intravenosamente acorta el tiempo de coagulación de la sangre y es utilizada en casos de hemorragias.

Por otro lado investigaciones recientes muestran que la pectina administrada de forma oral puede ayudar a disminuir los niveles de colesterol en la sangre, así mismo es utilizada en medicamentos para el tratamiento de úlceras gástricas y duodenales..

Dentro de las aplicaciones que presenta este polisacárido encontramos que al ser combinado con gelatina pudiera ser utilizado para el encapsulamiento de agentes medicinales y su liberación en el cuerpo. Tal es el caso de la mezcla elaborada con pectina-aspirina, la cual no produce irritación gástrica. (Towle et al,1980; Fogarty y Ward, 1972).

Una de las propiedades de gran interés que mostró la pectina fue su capacidad de atrapar metales pesados por medio de un mecanismo de acomplejamiento. Esto es posible debido a que la pectina se encuentra como un polielectrolito cargado negativamente y puede unirse a iones de metales pesados cargados positivamente. La afinidad que presenta este polielectrolitos es de mayor a menor proporción para los

siguientes metales: Plomo (Pb) > Bario (Ba) > Cadmio (Cd) > Estroncio (Sr), sigue decreciendo en su capacidad para atrapar iones alcalinotérreos y iones alcalinos.

Las pectinas con bajo grado de metilación o esterificación son un antídoto para el envenenamiento con metales pesados, por un aumento en la excreción de las heces fecales y una disminución en la reabsorción. Sin embargo los metales pesados han sido reportados con excreción vía urinaria.

El mecanismo de acción está basado en los oligogalacturonidos, los cuales se producen al ser degradada la pectina por microorganismos en el colon y con la reabsorción en el cuerpo. Estos oligogalacturonidos catalizan la reacción de excreción así mismo su unión a metales pesados, resultando en una excreción vía urinaria. La forma en que esto ocurre no ha quedado claramente entendida.

El producto que fue desarrollado con esta tecnología es el Medetopekt, el cual es una tableta consistente de pectina de manzana de baja metilación con una capacidad mejorada de unirse a metales pesados especialmente al plomo, a demás contiene polvo de manzana y fibra de las mismas, etc (Endress,1998).

DEGRADACIÓN DE LA PECTINA

Existen muchas enzimas que pueden degradar la pectina. Básicamente existen dos tipos de enzimas pécticas.

- Pectín esterasas las cuales únicamente hidrolizan el grupo metil ester de la pectina produciendo formación de metanol y moléculas libres de ácido D-galacturónico.
- Transelimininasas o Pectatoliasa, las cuales degradan los enlaces $\alpha(1-4)$ por transeliminación.

- Poligalacturonasas son aquellas enzimas que rompen los enlaces glucosídicos de una manera hidrolítica.

QUITINA

La quitina fue descubierta en hongos en 1811 por el francés Henri Bracannot, quien la llamo *fungina*, para 1820 la quitina fue aislada de insectos. La quitina es el segundo polímero más abundante en la naturaleza después de la celulosa y es el mayor polisacárido en exoesqueletos de insectos, pared celular de hongos y caparazón de crustáceos, este polisacárido está constituido por enlaces $\beta(1-4)$ ligados a unidades repetidas de N-acetilglucosamina (Nicol,1991; Xu et al, 1996; Dinesh et al, 2000).

Se estima que un millón de toneladas de quitina son sintetizadas cada año en la naturaleza (Hennen,1996).

Entre los desechos de crustáceos se encuentra el caparazón, el cual está constituido principalmente de: 30-40% de proteína, 30-50% de carbonato de calcio, 20-30% de quitina. Estas proporciones varían dependiendo de la especie de crustáceo.

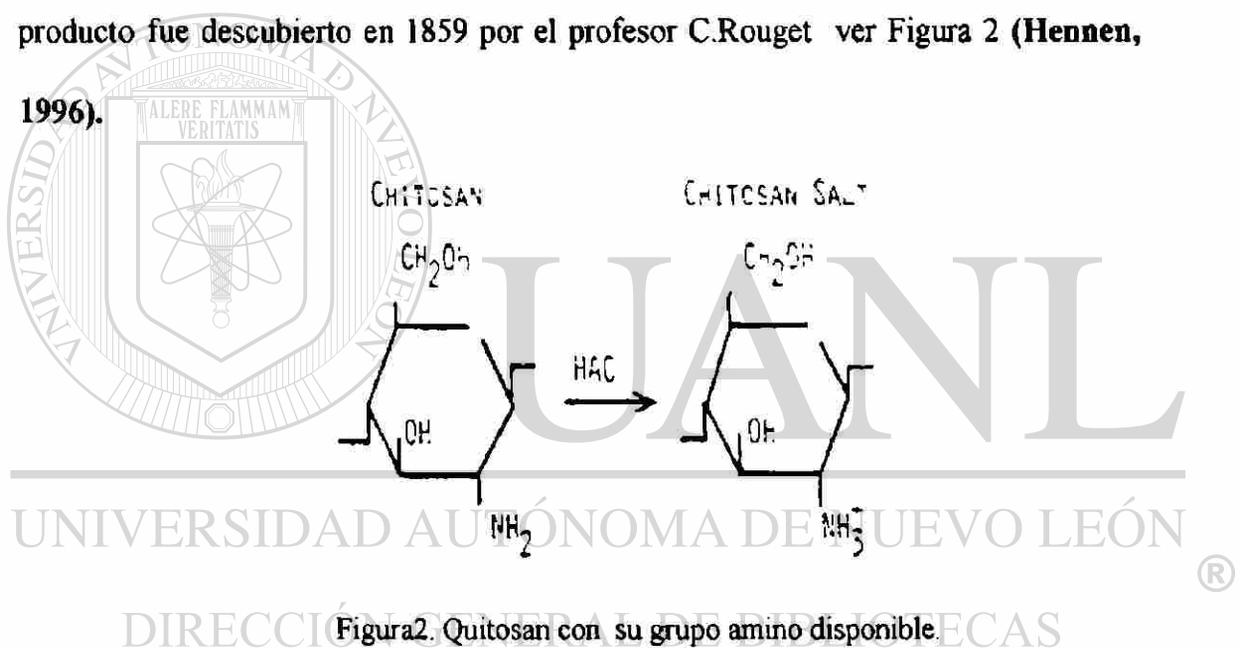
La quitina es obtenida de la industrialización del caparazón de cangrejo y camarón, y se presenta como un polvo cristalino o amorfo insoluble en agua, solventes orgánicos, ácidos diluidos o álcalis. Se disuelve en ácidos minerales concentrados con la simultánea degradación del polímero (Mathur,N.K. y Narang,C.K. 1990).

La quitina es un biopolímero ampliamente utilizado en la industria de los alimentos, agricultura, medicina, biotecnología, etc.

QUITOSAN

ESTRUCTURA Y PROPIEDADES

Un importante derivado de la desacetilación de la quitina es el quitosán, este producto fue descubierto en 1859 por el profesor C.Rouget ver Figura 2 (Hennen, 1996).



El quitosán es un amino-polisacárido derivado de la quitina, la cual es desacetilada al ser sometida a un tratamiento de hidrólisis con NaOH, posteriormente se enjuaga, se ajusta el pH, se decanta y finalmente este polímero es sometido a un tratamiento de secado en el cual se obtiene en forma de hojuelas y posteriormente el quitosán en polvo. (Sanford, 1989 ; Singh, 2000).

Las unidades de glucosamina presentes en el quitosan contienen un grupo amino libre, el cual puede tomar una carga positiva que le proporciona propiedades asombrosas (Hennen, 1996).

El quitosan es un polímero de alto peso molecular, natural, no tóxico, biodegradable, ampliamente producido y comercializado en Norte América. (Sanford, P; 1989).

El quitosan [β -(1 \rightarrow 4)-2-amino-2-deoxy-D-glucosa] generalmente es considerado y presentado como un homopolímero, sin embargo el proceso de desacetilación raramente es completo, por lo cual el producto obtenido es un copolímero que contiene 2-acetoamido-2deoxi- β -D-glucopiranososa y residuos de 2-amino-2-deoxi- β -D-glucopyranosa. (Xu et al, 1996; Singh et al, 2000).

Sin embargo dependiendo del proceso que se haya utilizado para obtener el quitosan y del tiempo de reacción, se obtienen diferentes grados de desacetilación

(GD) y propiedades fisicoquímicas del quitosan. Por lo cual el quitosan puede ser caracterizado en base a su GD en:

Quitosan de bajo grado de desacetilación , en él los grupos acetilo de la N-acetilglucosamina fueron parcialmente eliminados (35%), quedando hasta un 65% de las unidades como N-glucosamina.

Quitosan con alto grado de desacetilación, este quitosan tiene presente una gran cantidad de unidades N-glucosamina correspondiendo hasta a un 98% de la cadena macromolecular y teniendo residuos acetilados como N-acetilglucosamina.

El quitosan también puede caracterizarse de acuerdo a sus propiedades:

- ***Propiedades Químicas y Catiónicas***

La mayoría de los polisacáridos comerciales son neutros o ácidos, pero el quitosan es un polisacárido básico. En condiciones de pH neutro o base ($pK=6.5$), el quitosan contiene grupos aminos libres y es insoluble en agua, sin embargo a pH ácido, el quitosan es soluble en agua debido a la protonación de sus grupos aminos (NH_3) (Sanford, 1989; Nicol, 1991). La solubilidad depende de la distribución de los grupos amino y N-acetil. Por lo cual el quitosan es un polielectrolito catiónico lineal a pH ácido y con una alta densidad de cargas, una carga por unidad de glucosamina. Algunos materiales con cargas negativas (proteínas, polisacáridos aniónicos, ácidos nucleicos, etc) interactúan con el quitosan en solución acuosas ácidas y reaccionan, obteniéndose una neutralidad eléctrica y un Complejo Polielectrolito.

Dentro de las propiedades catiónicas del quitosan se encuentra su excelente capacidad como floculante debido al gran número de grupos $-NH_3$ que pueden interactuar con coloides de carga negativa.

A demás de poderse unir a polielectrolitos de carga opuesta también tiene la capacidad de quelación hacia metales como: Hierro (Fe), Cobre (Cu), Cadmio (Cd), Mercurio (Hg), Plomo (Pb), Cromo (Cr), Níquel (Ni), Uranio (U), etc.

El quitosan forma soluciones muy viscosas en ácido acético y ácido fórmico las cuales pueden ser utilizadas para elaboración de membranas. (Sanford, 1989)

- **Propiedades Biológicas**

El quitosan tiene propiedades de biocompatibilidad entre las cuales está que es un polímero no tóxico, biodegradable y natural.

Dentro de su bioactividad el quitosan ha mostrado capacidad para facilitar la cicatrización de heridas, así mismo tiene la capacidad de reducir los niveles de colesterol en la sangre y estimular el sistema inmune. (Sanford, 1989).

El quitosan y la quitina tienen un bajo grado de toxicidad; una LD_{50} para el quitosan en ratones de laboratorio de 16g/kg de peso cuerpo, la cual es cercana a la del azúcar y la sal. (Singh et al, 2000).

PRODUCCION DE QUITINA Y QUITOSAN

La quitina es un producto de desecho de las industrias procesadoras de alimentos del mar, la cual tiene aproximadamente $1.45 \cdot 10^5$ toneladas métricas en base seca de dichos desechos a nivel mundial y $1.2 \cdot 10^5$ toneladas métricas de producción mundial de quitina (Knorr, 1991).

En USA, la quitina y el quitosan son comúnmente producidos a partir de camarón y cangrejo de Alaska y México (Muzarelli, 1982).

Al mismo tiempo la quitina es también producida por hongos como *Mucor rouxii*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus phoenicis*, *Histoplasma capsulatum*, etc; los cuales producen anualmente $3.2 \cdot 10^4$ toneladas métricas de este producto. El total de ventas de quitina/quitosan se esperan en 2 millones de US dólar en los siguientes 10 años, esto es debido al gran número de aplicaciones de los mismos (Knorr, 1991).

La producción de quitina y quitosan esta basada en caparazón de cangrejo y camarón de industrias ubicadas en Oregon, Washington, Virginia y Japón. Muchos países tienen fuentes de crustáceos sin explotar como Noruega, México y Chile. (Arévalo, 1996).

A nivel mundial en 1996 se capturaron 3 millones de toneladas de camarón de los cuales 1.9 millones de toneladas fueron capturadas en el mar y 891,000 toneladas fueron cultivadas, este producto es una de las principales fuentes para la obtención de quitina y quitosan (FAO, 1996). En México en 1999 se produjeron 95,611 toneladas de camarón, de las cuales el 85% son desechos y son considerados como contaminantes, por lo cual de la captura total solo se extrae el 1% de quitina del total de toneladas de camarón (Arévalo,1996 ; INEGI,1999). esto nos indica que en México podrían producirse solo a partir de residuos de camarón 95.611 toneladas de quitina y/o a su vez de quitosan, lo cual le daría un valor agregado a los desperdicios de camarón y otros crustáceos, al mismo tiempo que un producto que podría ser vendido y ampliamente utilizado en la industria de alimentos, tratamiento de aguas, captación de metales, área médica, agricultura, elaboración de complejos polielectrolito etc. El kilogramo de quitosan grado alimenticio se cotiza alrededor de 20 US dollar, aproximadamente 200 pesos.

APLICACIÓN

El quitosan es obtenido directamente de la quitina, y este biopolímero puede encontrarse en el mercado en muy diversas formas: hojuelas, polvo, gel, fibras, soluciones etc.

El quitosan es un biopolímero con una gran cantidad de aplicaciones, utilizándose éste en la industria de alimentos, cosméticos, agricultura, biotecnología, en la medicina e industria farmacéutica, tratamiento de aguas y captación de metales.

El quitosan en la industria de los alimentos es utilizado como un agente de precipitación de material proteico, el quitosan no debe estar presente en alimentos a concentraciones mayores de 0.1%, este polímero también se utiliza en la industria de los jugos de frutas para la clarificación de los mismos, es utilizado como cubierta protectora de frutas, en la recuperación de microalgas y purificación de agua potable, etc. El uso de este biopolímero en agua potable se encuentra reglamentado por la U.S. Environmental Protection Agency (Sanford, 1989 ; Knorr, 1991).

El quitosan en la industria de los cosméticos fue utilizado por primera vez en Japón en 1986 (Mathur *et al*, 1990).

Este polímero de grandes propiedades es utilizado como un polielectrolito catiónico no tóxico en el tratamiento y cuidado de la piel y el cabello. Las soluciones transparentes de éste polímero forman películas que se adhieren al cabello y la piel, en la actualidad este polímero y algunas modificaciones del mismo, como el N-carboxibutil quitosan son utilizadas para enriquecer algunos productos para el cuidado del cabello y uñas: spray, acondicionadores, shampoo y barnices de uñas. Las industrias que están comercializando estos productos se encuentran en Alemania, Japón etc. (Sanford, 1989 ; Nicol, 1991).

El quitosan en la agricultura se ha utilizado aplicándolo en solución al 0.4% en forma de spray directamente sobre plantas de tomate eliminando la infección ocasionada por el virus *mosaico del tabaco* (Muzzarelli, 1982).

En la Biotecnología el quitosan es utilizado ampliamente para la inmovilización de enzimas y células, elaboración de columnas empacadas y biomembranas, etc (Mathur *et al*, 1990 ; Sing *et al*,2000).

El quitosan ha destacado por sus múltiples usos en el área de la medicina y productos farmacéuticos, donde cada día se descubren nuevas aplicaciones. En la actualidad se elabora a partir de quitosan un sin número de productos, entre los cuales están:

- **Piel sintética.-** la cual es utilizada para tratamiento de quemaduras, úlceras, piel infectada, etc (Allan *et al*, 1984; Mathur *et al*, 1990; Singh *et al*,2000).
- **Suturas quirúrgicas.-** en ellas se utiliza también la quitina, y se obtiene un filamento fibroso fuerte el cual no necesita ser removido después de la cicatrización de la herida (Mathur *et al*, 1990 ; Dinesh *et al*,2000).
- **Lentes de contacto.-** los cuales tienen muy buenas propiedades de permeación

y larga duración (Mathur *et al*,1990).

- **Membranas de riñón artificial.-** lo cual ha hecho posible el mantenimiento de pacientes con problemas crónicos de riñón, debido a que se llevan a cabo repetitivas hemodiálisis (Singh y Ray, 2000).
- **Agente reductor de colesterol.-** el quitosan es ampliamente usado en la actualidad como parte de una dieta, para eliminar grasa (Sanford, 1989 ; Knorr,1991).

Nuevos productos del área médica y farmacéutica siguen desarrollándose cada día o perfeccionándose, utilizando como producto principal el quitosan.

El quitosan es un polímero multifuncional y con grandes propiedades debido a su estructura química y molecular lo cual le confiere diversas propiedades, entre las cuales se encuentra la de agente coagulante / floculante, adsorbente y quelante, lo cual le brinda utilidad a la industria de tratamiento de aguas.

El acumulamiento de metales pesados y pesticidas en el ambiente, ha creado grandes daños en las cadenas alimenticias, por lo cual se requiere de la depuración de aguas contaminadas con estos tóxicos para su descarga y reutilización (Knorr,1991).

El uso de métodos convencionales para la remoción de metales en aguas provenientes de la industria como son la precipitación química u oxidación, filtración, tratamientos electroquímicos, intercambio iónico, recuperación por evaporación pueden ser no efectivos y costosos (Volesky, 1987).

La interacción de los metales con el quitosan es compleja, probablemente dominadas por adsorción, intercambio iónico y quelación (Onsoyen y Shaugrud, 1990). El quitosan es un excelente quelante de metales dañinos (cobre, níquel, cromo, cadmio, manganeso, cobalto, plomo, mercurio, zinc, uranio y plata) debido a que presentan la capacidad sus grupos amino e hidroxilo de actuar como donadores de electrones. Esta capacidad ha sido confirmada con el uso de técnicas instrumentales avanzadas como EDAX (Energy Dispersive Análisis of X ray) y ESCA (Electron Spectroscopy for Chemical Análisis) (Muzarelli, 1983 ; Standford,1989).

Bassi *et al*, en el 2000 llevaron a cabo experimentos para determinar la capacidad de adsorción del quitosan bajo ciertas variables fisicoquímicas, encontrando que las hojuelas de éste polímero tienen una máxima captación para iones Cobre. El orden de adsorción de iones por el quitosan decrece de Cu^{2+} a Zn^{2+} de la siguiente manera: Cobre >Plomo >Cadmio >Zinc. Se observó que la mayor

absorción de metales pesados estaba en función de la cantidad de quitosan, no excediendo de 0.24 g en 25 ml, así mismo que el pH no fuera mayor de 6 o 7.

Uno de los principales factores para la interacción del quitosan con los metales, es el grado de polimerización, desacetilación y la distribución de grupos acetil a lo largo de la cadena polimérica (Onsoyen y Shaugrud, 1990).

Otros estudios se han llevado a cabo recientemente para evaluar la capacidad del quitosan de remover iones de plata solubles, provenientes de aguas residuales de la industria de la fotografía y electroplateado, dichos desechos son considerados peligrosos y están normados por la EPA a una concentración no mayor a 5ppm en efluentes. El quitosan demostró ser capaz de atrapar 42 mg de plata por gramo de quitosan utilizando una columna (Lasko y Hurst, 1999).

Dentro de los estudios que se han llevado a cabo se ha observado la preferencia del quitosan por captar iones de cobre, por lo cual se ha propuesto la estructura y mecanismo de acomplejamiento de los mismos.

Se ha propuesto que el grupo amino en el quitosan es esencial para establecer la razón $[NH_2]/[Cu^{2+}]$, por otro lado la segunda interacción entre el cobre y el grupo hidroxilo del tercer carbón es esperada. Otra posibilidad está relacionada con la participación de dos monómeros distintos del mismo, o diferentes, la cadena atrapa el mismo catión para formar un complejo estable (Monteiro y Airoidi, 1999).

Se han llevado a cabo modificaciones químicas del quitosan, dichas modificaciones fueron para los grupos aminos y grupos hidroxilos primarios. Algunos grupos funcionales como los grupos carboxilo (carboxyl), sulfuros y fósforos fueron introducidos en el quitosan y probados para atrapar iones Cobre,

Níquel, Cobalto, Manganeso, así mismo se ha comprobado que el quitosan no solamente tiene una buena capacidad de adsorción, si no una alta selectividad cuando se encuentra en presencia de varios metales. (Mitani *et al*, 1997; Tan *et al*, 1998).

Algunas investigaciones se han preocupado en medir la capacidad que tiene el quitosan y el N-carboximetil quitosan (NCCM) en adsorber metales preciosos como: iones de oro (III). Se ha demostrado que la adsorción de iones Au^{3+} solo ocurre a pH=4 y la remoción es de 30.95 mg/ g de quitosan y de 33.90 mg/g de NCCM a pH=6 (Wan y Liang, 1999).

La capacidad del quitosan se ha probado en la captación de Uranio a concentraciones de 50 y 200 mg/l, en la cual se ha enfatizado, como en otros metales la influencia del pH y se ha observado una mayor captación a pH neutro (Park y Woo, 1999).

DEGRADACIÓN DEL QUITOSAN

La biodegradabilidad de la quitina y el quitosan está basada en que ambos son polisacáridos de origen natural.

Se considera que existe una gran variedad de microorganismos en suelo y agua capaces de degradar la quitina y el quitosan. Algunos solamente degradan el quitosan mientras que otros degradan ambos polisacáridos. Los microorganismos degradadores de quitina son extremadamente comunes en el suelo (10^5 UFC por g de suelo de jardín, bosque y muestras de suelos agrícolas)(Arévalo, 1996).

Se ha estudiado la degradación de películas de quitosan al ser expuestas al medio ambiente midiendo la pérdida en peso del mismo, resultando esta una degradación mas rápida que la del celofán.

Así mismo mezclas de quitina-polietileno y quitosan-polietileno a una razón de 10:90, se observó que en ambas mezclas se presentó una pérdida en peso de quitina y quitosan en un 85% y 73% después de 6 meses de incubación en suelo (Xu *et al*, 1996)

Se ha demostrado que el quitosan es degradado por quitosanasas producidas por microorganismos como: *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Aspergillus* y *Penicillium*, los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en el ecosistema.

La quitina es degradada por quitinasas, las cuales se encuentran distribuidas en la naturaleza y en el sistema digestivo de muchos animales. La bacteria *Serratia marcescens* y *Enterobacter liquefaciens* son 10 veces mas activas que *Aspergillus fumigatus* y *Streptomyces*. La quitinasa producida por *Serratia marcescens* puede ser purificada fácilmente.

POLIELECTROLITOS

Polielectrolitos este termino denota una clase de compuesto macromolecular, el cual cuando se disuelve en un solvente polar conveniente (generalmente agua), espontáneamente adquiere o puede ser que adquiera un gran número de cargas elementarias distribuidas a lo largo de la cadena macromolecular (Nakajima y Shinoda, 1976).

↔Que son los polielectrolitos?

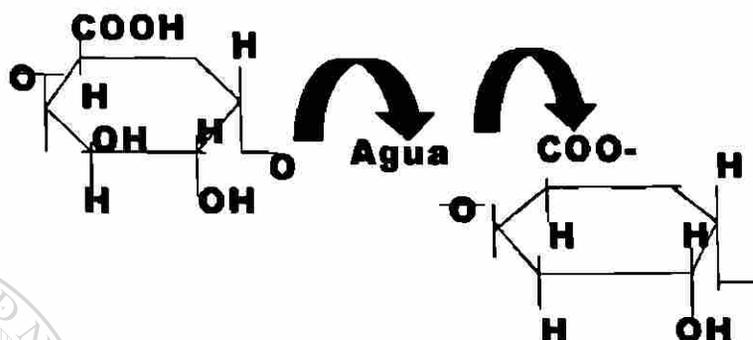


Figura3. Polímero disuelto en un solvente polar

El número de cargas elementarias puede ser del mismo orden que el número de unidades monoméricas (grado de polimerización). En la mayoría de los casos las cargas de los polielectrolitos son todas del mismo signo pero pueden existir polielectrolitos con ambas cargas o ser preparado en el laboratorio (Mandel,1990).

Los polielectrolitos en la actualidad son de alta relevancia práctica como: estabilizadores, agentes engrosadores, agentes gelificantes, súper absorbentes, floculantes, membranas de complejos polielectrolitos para procesos de separación o microencapsulamiento (Dautzenberg, 2001).

CLASIFICACIÓN DE LOS POLIELECTROLITOS

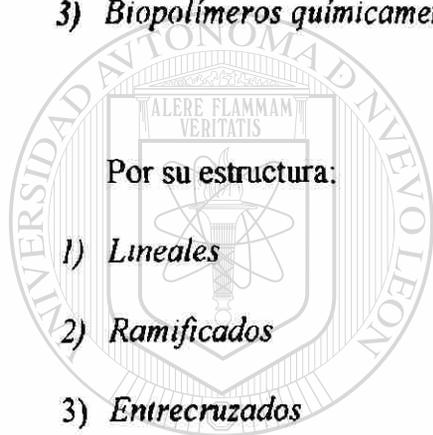
Los polielectrolitos pueden ser clasificados en diferentes formas:

Por su naturaleza :

- 1) *Macromoléculas naturales (DNA)*
- 2) *Macromoléculas sintéticas (ácido acrílico)*
- 3) *Biopolímeros químicamente modificados (carboximetil celulosa)*

Por su estructura:

- 1) *Lineales*
- 2) *Ramificados*
- 3) *Entrecruzados*



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Por su composición química:

- 1) *Homopolímeros*
- 2) *Copolímeros*

En cuanto a su capacidad electroquímica:

- 1) *Poliácidos o Polianiones*
- 2) *Polibases o Policationes*
- 3) *Polisales (Mandel,1990).*

COMPLEJOS DE POLIELECTROLITOS (CPE'S)

Los CPE's o polisales, son formados cuando macromoléculas de cargas opuestas se dejan a interactuar ver Figura 4 (Nakajima y Shinoda, 1976 ; Izumrudov *et al*, 1998).

◀Qué son los Complejos Polielectrolitos (PEC's)?

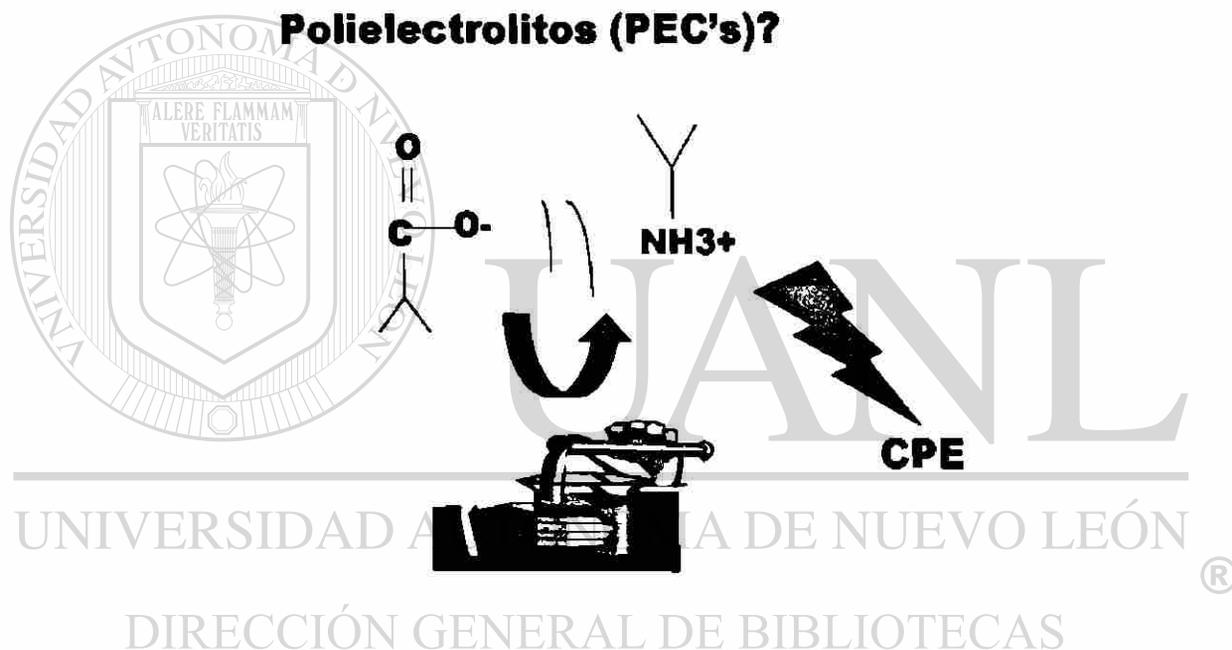


Figura 4. Reacción entre un polielectrolito aniónico y otro catiónico.

La interacción usualmente envuelve a un ácido polimérico o su sal con una base polimérica o su sal.

Dependiendo de una variedad de factores se podría obtener la separación del sistema en 2 fases, una fase diluida y una fase concentrada del complejo *coacervado*; esto podría resultar en un precipitado mas o menos compacto o un *gel*.

Coacervado: El termino coacervado o coacervación denota un fenómeno físico que suele producirse en las disoluciones acuosas de polimeros altamente

hidratados; se define como la separación espontánea de una disolución acuosa monofásica de un polímero en dos distintas fases, una de las cuales tiene una concentración de polímero relativamente alta, mientras la otra la tiene relativamente baja. La tendencia a experimentar coacervación es función fundamental, del tamaño molecular del polímero y del grado de penetración por el agua en sus intersticios (Lehninger, 1991).

Gel.-Un gel consiste en moléculas poliméricas entrecruzadas en forma enredada, se podría decir que es una red interconectada inmersa en un medio líquido. Las propiedades de los geles dependen de la interacción compleja entre un solvente y un soluto.

En la mayoría de los geles los enlaces de la malla no son punto de interacción, pero envuelven una gran cantidad de segmentos de dos o más moléculas de polímeros, usualmente están bien definida las zonas de unión, las cuales están bien estabilizadas por una combinación de fuerzas intermoleculares débiles. Individualmente estas fuerzas no son suficientes para mantener la integridad de la estructura de las zonas de unión, pero conjuntamente, su efecto proporciona estabilidad termodinámica a los geles (Walter, 1991).

Los CPE's presentan como principal fuerza de atracción las interacciones electrostáticas; pero los puentes de hidrogeno, fuerzas dipolo e interacciones hidrofóbicas frecuentemente juegan un papel importante en la determinación de las estructuras finales.

Los puentes de hidrógeno son enlaces generalmente débiles por lo cual solo cuando un buen número de ellos coopera, podrían conferirle estabilidad termodinámica a la red del gel.

Por otro lado una gran variedad de métodos son empleados en el estudio de la formación de CPE's , incluyendo nefelometría, conductancia, potenciometría, electroforesis, medición de pH y calorimetría.

Dentro de las investigaciones realizadas la estructura de los CPE's ha sido descrita como la de un huevo revuelto y una escalera.

Sin embargo la estructura de los CPE's depende de:

- 1) La estructura de los dos polímeros
- 2) Presencia de microsales
- 3) Naturaleza del solvente
- 4) Temperatura de formación del CPE

La estructura y propiedades de los CPE's pueden ser estudiadas por medio de análisis elementales como: solubilidad e incremento de medidas, técnicas de espectroscopia, microscopía electrónica, etc (Smid y Fish, 1990).

Los CPE's se ha observado pueden formarse de dos maneras:

- 1) *Estequiométrica*, en relación 1:1 (por cada catión se une un grupo aniónico)
- 2) *No Estequiométrica*, en relación 1:2 (por cada grupo catiónico se unen dos aniónicos o viceversa) etc.

En la mayoría de los sistemas donde los CPE's son insolubles, la mezcla fue hecha bajo condiciones adecuadas y a demás exhibe una estequiometría 1:1 independientemente del número de cargas en la macromolécula y la estructura de sus

enlaces. Esto se observa especialmente en los polímeros lineales con fácil disposición de sus grupos ionizables.

En algunos estudios de los CPE's coacervados fueron utilizados biopolímeros ácido débiles o básicos. El número de cargas de estos poliamfolitos dependía del pH, sin embargo la coacervación del complejo depende del pH y la razón de mezcla de ambos polímeros. El grado de coacervación obtiene su máximo cuando los poli-iones están presentes en cantidades eléctricamente equivalentes. Otra variable que se debe tomar en cuenta para la formación del coacervado es la heterogeneidad del peso molecular (PM) de los poli-iones reaccionantes.

Reciente evidencia a sugerido que los puentes de hidrógeno y las interacciones hidrofóbicas son fuerzas importantes en la agregación de las moléculas de pectina.

Existen 3 tipos de Complejos Polielectrolitos:

- Los obtenidos a partir de interacción de biopolímeros.
- Los que se formas por interacción entre biopolímeros y macromoléculas sintéticas.
- Los únicamente formados por la interacción de macromoléculas sintéticas.

ELABORACIÓN DE COMPLEJOS POLIELECTROLITOS

Los primeros reportes acerca de la elaboración y estudio de CPE's se tienen desde los años sesenta. En Japón se elaboraron CPE's a partir de Sulfato Dextran de

Sodio y Quitosan, estudiándose la razón de mezcla para la obtención de dichos complejos (Kikuchi y Fukuda, 1974).

Trabajos con polielectrolitos naturales se han enfocado en el desarrollo de CPE's para filtración y aplicaciones en el área médica como antitrombogénicos. La formación de CPE con biopolímeros en función del pH se han investigado con polímeros catiónicos incluyendo el glicol-quitosan y ácido hialurónico, sulfato de condroitina A, sulfato de condroitina C, heparina o sulfato de celulosa como componente polianiónico, se encontró que los CPE's se desarrollaron estequiometricamente, excepto para el glicol quitosan-heparina, todos estos resultados fueron analizados tomando en cuenta la conformación molecular de la cadena de los componentes poliméricos y la distribución de los grupos ionizables a lo largo de la cadena (Nakajima y Shinoda, 1976; Kikuchi y Fukuda, 1974).

La interacción entre polisacáridos , polisacáridos y macromoléculas sintéticas son estudiadas debido a la importancia en sistemas biológicos, membranas y aplicación industrial (Fukuda y Kikuchi, 1976).

Por otro lado se han obtenido CPE's con diferentes propiedades: agentes antitrombogénicos y agentes de coagulación sanguínea, fueron elaborados utilizando biopolímeros modificados como el Sulfato Dextran de Sodio (polielectrolito aniónico) y Glicol Quitosan (polielectrolito catiónico) éste último disuelto en dos diferente ácidos (Fukuda y Kikuchi, 1976).

Otro complejo polielectrolito ha sido obtenido a partir de Sulfato Dextran de Sodio y Dextran conteniendo grupos Dietilaminoetil, dichos complejos han sido estudiados y evaluados químicamente (Kikuchi *et al*, 1976).

Nakajima y Shinoda en 1977, estudiaron las propiedades de permeación del CPE Glicol-Quitosan-Sulfato de Condroitina C y del CPE Glicol-Quitosan-Heparina obtenidos por el método de casting.

Así mismo se han elaborado CPE's utilizando Glicol-Quitosan como componente catiónico y algunos polisacáridos como Carboximetil Celulosa, ácido poligalacturónico, ácido alginico y Sulfato Dextran con sales de sodio como componentes catiónicos evaluando su razón de mezcla y obteniéndose películas delgadas las cuales se han utilizado para medir y evaluar sus propiedades dieléctricas a diferentes temperaturas, así mismo la conductividad eléctrica (**Srinivasan y Kamalam, 1982**).

Se han llevado a cabo la elaboración de complejos utilizando quitosan y celulosa, los cuales fueron probados en la captación de colorantes en aguas residuales, obteniéndose muy buenos resultados de dicho experimento (**Muzzarelli, 1982**).

En el área médica se ha obtenido la piel sintética al mezclar un polímero aniónico como las sales de amonio de queratina, y dos polímeros catiónicos como el acetato de quitosan y acetato de colágeno, la interacción de estos tres biopolímeros es predominantemente iónica (**Mathur y Narang, 1990**).

Complejos polielectrolitos han sido elaborados mezclando soluciones de carboximetil almidón y dietiletilamino almidón a diferentes razones de mezcla. Dicho complejo es insoluble en agua (**Willet, 1995**).

Complejos de quitosan-polianión fueron utilizados como agentes de coagulación para tratamiento de queso cheddar. (**Savant y Torres, 2000**).

En la actualidad se está trabajando en la investigación y aplicación de los CPE's naturales.

La formación de CPE's sintéticos ha sido ampliamente estudiada, tal es el caso de la formación de CPE's sintéticos insolubles en agua, entre un polianión débil (sales de sodio de polímero de ácido acrílico , copolímeros de ácido acrílico con ácido itaconico o ácido málico) y un policación fuerte (polielectrolitos catiónicos con grupos de sales cuaternarias en la cadena principal). La formación de estos CPE's fue seguida por variaciones en la conductividad, en la viscosidad específica del medio de reacción y por titulación potenciométrica, finalmente los CPE se caracterizaron por análisis espectral comparándose con los polímeros complementarios. (Dragan *et al*, 1996).

Michael *et al*, investigaron las propiedades de varios CPE's sintetizados de poli sulfonato de estireno y poli (vinil benzil trimetilamonio cloride) y sugirieron su potencial de aplicación de acuerdo a sus propiedades físicas y químicas (Nakajima y Shinoda, 1977).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

MATERIAL Y METODOS

CARACTERIZACION Y OBTENCIÓN DE LOS POLIMEROS Y CPE's

Para la obtención y caracterización de los Polímeros y CPE's se requirieron los siguientes componentes.

Pectina (Cáscara de cítricos, alto grado de esterificación)

Quitosan TM 756 98.6% desacetilación (Carapacho de camarón)(Primex)

Agua desionizada (CTR)

Ácido acético glacial 99% pureza (Sigma Chemical Co.)

Acido Clorhídrico 37.3% pureza (Productos Químicos Monterrey, S. A)

Cloruro de Sodio hojuelas 98% pureza (Productos Químicos Monterrey, S. A)

Acetato de Sodio (Sigma Chemical Co.)

CARACTERIZACION DE LOS POLÍMEROS

Para la caracterización de los polímeros se llevó a cabo la medición de varios parámetros de importancia como: Humedad, pH de los polímeros, Grupos ionizables, Ph óptimo de mezcla de los polielectrolitos catiónico y aniónico, Viscosidad relativa e intrínseca, Peso Molecular, Caracterización molecular por Espectroscopia de Infrarrojo por transformadas de Fourier (FTIR).

Determinación de Humedad

El contenido de Humedad de los diferentes polisacáridos (quitosan, pectina), se determinó pesando en una balanza analítica (Mettler Toledo Modelo AB2049) 1 g de cada uno de los polisacáridos en un vidrio de reloj a peso constante, □ se introdujeron las muestras en una estufa (Marsa Modelo HDP-334) a una temperatura de 74°C por 24 horas (hrs). Se procedió a transferir el vidrio de reloj a un desecador hasta que este alcanzará la temperatura ambiente (de 15 a 30 minutos.) Pesó el recipiente con la muestra desecada. Los experimentos fueron llevados a cabo por triplicado para su validación estadística.

$$\text{Porcentaje de Humedad (\%)} = \frac{(P_2 - P_1) * 100}{M}$$

P_2 = Peso del vidrio de reloj y la muestra húmeda en gramos

P_1 = Peso del vidrio de reloj y la muestra seca en gramos .

M = Peso de la muestra en gramos.

Determinación de pH

Se pesó en una balanza analítica 1 g de muestra, la cual fue adicionada a 100ml de agua destilada a pH 7, la muestra fue agitada con una barra magnética y una placa de agitación (Corning stirrer/ hot plate) hasta homogenizar, posteriormente se determinó el pH en un Potenciómetro (Beckman Mod 063). Los experimentos fueron llevados a cabo por triplicado para su validación estadística.

Determinación de Grupos Ionizables

El contenido de grupos ionizables de los polímeros: quitosan (polielectrolito ó polímero catiónico) y pectina (polielectrolito o polímero aniónico), se determino pesando 1 gramo de muestra dicha muestra fue disuelta con agitación en 180 mililitros (ml) de agua desionizada pH=7, posteriormente la solución fue separada en 3 muestras de a 60 ml, dichas muestras fueron tituladas de manera independiente con soluciones de Hidroxido de sodio 0.1 Molar(M) para el polielectrolito catiónico y aniónico respectivamente. Los cambios en el pH fueron seguidos durante la titulación con un potenciómetro Beckman Mod ϕ 63.

Para el polielectrolito catiónico se realizó un disolución previa con ácido clorhídrico 1 M. siendo utilizados menos de 5 ml para dicho fin.(Domszy et al,1985).

El volumen de agente titulante consumido durante la titulación fue medido y en base a su molaridad fueron determinados los grupos ionizables para la pectina (COO^-) y para el quitosan (NH_3^+), en el caso de este se pudo determinar con el P.M.

Determinación del pK de los polímeros

El valor del pH en el punto medio de la valoración es numéricamente igual al valor del pK del ácido valorado. En el punto medio se hallan presentes concentraciones equimolares de la especie dadora de protones (HA) y del aceptor de protones (A^-). El pK de un ácido puede calcularse en realidad, a partir del pH en cualquier punto de la curva de valoración del ácido, siempre que se conozcan las concentraciones de las especies dadoras y aceptoras de protones en dicho punto

Determinación de pH óptimo de los polímeros

El pH óptimo es el pH al cual se encuentra la mayor cantidad de grupos ionizables para cada polímero y ese valor va a estar dado por el punto máximo de la titulación, que es aquel donde el agente titulado presenta un cambio brusco en el pH por un exceso del agente titulante. Por otro lado se encuentra el valor de pK el cual es el punto medio de la titulación y se encuentran presentes el 50% de grupos ionizables (Lehninger, 1991).

Determinación de la Viscosidad intrínseca

La viscosidad intrínseca de los polímeros fue medida en un viscosímetro de Oswald, sostenido en un baño de temperatura a 30 ± 2 °C en aceite de silicona (Macossay, 1997)

Preparación de la muestra:

La pectina fue disuelta en agua destilada a concentraciones de 0.25, 0.20, 0.15, 0.10 y 0.05 g por decilitro (dl). Igualmente el quitosan fue disuelto en un buffer de acetato 0.1Molar (M) y ac. Acético 0.2M preparado en agua destilada, a concentraciones de 0.25, 0.20, 0.15, 0.10 y 0.05 g /dl.

Procesamiento de la muestra:

Primeramente se llena el viscosímetro con 10 ml de la solución blanco específica para cada polímero y se llevan a cabo aproximadamente 5 mediciones del

tiempo (cronometradas) que tarda en pasar el solvente del punto A al B del viscosímetro. Posteriormente se lleva a cabo el análisis de las soluciones poliméricas haciendo de la solución de menor concentración a la de mayor concentración.

Dichos resultados fueron promediados y con ellos se obtuvo la viscosidad relativa (D_r), viscosidad específica (D_{sp}), la viscosidad reducida (D_{sp}/c) y Viscosidad intrínseca.

Viscosidad relativa:

$$D_r = D / D_0 = t / t_0$$

t = tiempo que tarda en pasar la solución de A a B.

t_0 = tiempo que tarda en pasar el solvente de A a B.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Viscosidad específica:

$$D_{sp} = D_r - 1$$

Viscosidad reducida:

$$\text{Viscosidad red} = D_{sp} / c$$

c = concentración del polímero

Viscosidad:

$$\ln D_r / c = c^{-1} \ln D_r$$

$$[D] = \ln D_r / c$$

Para obtener la viscosidad intrínseca se grafica la viscosidad reducida contra viscosidad y se realiza una regresión lineal si es necesario, posteriormente se lleva a cabo una extrapolación de los datos. En el eje de las X se presenta la concentración del polímero (g/dl) y en el eje de las Y la $[\eta] = c^{-1} \ln D_r$ y η_{sp} / c .

Determinación del Peso Molecular (PM)

El peso molecular del polímero catiónico fue determinado usando la ecuación de Mark-Houwink (Wang et al,1991):

$$[\eta] = K * M^\alpha$$

K y α = constantes viscosimétricas de acuerdo al grado de desacetilación del quitosan.

K (ml/g)

$[\eta]$ = viscosidad intrínseca (ml/g) (obtenida de la extrapolación)

M = Peso molecular (daltons)

Caracterización de los Polímeros por FTIR

En un matraz con 50 ml de agua desionizada se adicionaron entre 0.5-1g de polímero el cual fue disuelto con agitación para obtener soluciones de polímero al 0.5 o 1%. Posteriormente en cajas petri de plástico se vertió aproximadamente 15 ml de la solución polimérica la cual fue dejada a secar a temperatura ambiente hasta secar y

obtenerse una película, dicha película fue finalmente secada en una estufa (Marsa) por 4 horas a 50°C.

Posteriormente la película fue insertada un porta-muestras y leída en un Espectrofotómetro de Infrarrojo (Nicolet Modelo Impac 400D).

OBTENCIÓN DE LOS CPE's

Formulaciones para la obtención de los CPE's

De acuerdo a los resultados obtenidos en la caracterización química de los polímeros se establecieron 4 formulaciones en las cuales se conjugaron los valores de pH óptimo y pK de los polímeros y los grupos ionizables disponibles indispensables para conocer las concentraciones de mezcla de los polímeros. A las formulaciones se les asignaron las siguientes letras A, B, C y D, de acuerdo a la concentración y pH's a utilizar en la formulación.

Composición química de las diferentes formulaciones.

FORMULACION	CONCENTRACION (%) POLIMERO CATIIONICO (+)	CONCENTRACION (%) POLIMERO ANIIONICO (-)	pH D.E.L. POLIELECTROLITO (+)	pH D.E.L. POLIELECTROLITO (-)
A	1%	1%	6.0	3.9
B	1%	1%	6.0	7.6
C	1%	1%	3.8	3.9
D	1%	1%	3.8	7.6

El volumen de agua utilizado para preparar las soluciones poliméricas fue de 40 ml de H₂O desionizada.

Preparación de las soluciones poliméricas

Se pesó la cantidad requerida de pectina para tener una solución al 1% de concentración en agua desionizada, la pectina fue disuelta en 40 ml de agua desionizada al ser sometida a agitación con una barra magnética sobre una placa (Corning stirrer/ hot plate) de agitación, se procedió a ajustar el pH de la solución en un potenciómetro (Beckman Mod 063) con soluciones de NaOH y HCl 1 y 0.1M de acuerdo a la formulación por elaborar.

Las soluciones del polímero catiónico se elaboraron de manera diferente debido a que el polímero catiónico no es soluble en agua, por lo cual se agregó 1%

volumen a volumen (v/v) de ácido acético al agua desionizada y posteriormente se procedió a solubilizar el polímero por medio de una agitación continua con una barra magnética sobre una placa de agitación (Corning stirrer/ hot plate) así mismo se ajustó el pH con soluciones de NaOH y HCl 1 y 0.1 M de acuerdo a la formulación por elaborar.

Formación del CPE

Una vez preparadas las soluciones de polielectrolitos, se procedió a obtener el CPE al mezclar de manera homogénea la solución catiónica con la aniónica. Una vez llevada a cabo la mezcla se procedió a agitar por espacio de 15 minutos en un shaker

(Lab-line Incubator Shaker Orbit) a 150 revoluciones por minuto (r.p.m.). El CPE obtenido fue separado del sobrenadante con una espátula y pinzas de disección, para seguidamente ser pesado en una balanza (Mettler Toledo PB 3001) y obtener el peso húmedo de dicho complejo.

Para obtener el peso seco del CPE se procedió a tratar de eliminar la mayor cantidad de agua retenida por el complejo, por lo cual el CPE fue pesado y puesto en botes de 500ml para centrifuga (Beckman Modelo J2-21), el rotor utilizado fue el JA-10 y las condiciones de centrifugación fueron de 10,000 r.p.m. durante 25 minutos a 10°C. Posteriormente a la centrifugación se decanto el liquido liberado y el CPE fue puesto en cajas petri para ser secado a temperatura ambiente por 24 horas (hrs).

Una vez transcurridas las 24 hrs se peso el CPE en una balanza (Mettler Toledo PB3001). Todas las formulaciones se repitieron 4 veces para poder llevar a cabo el análisis estadístico de las mismas.

Los resultados de los rendimientos en la formación del CPE fueron analizados estadísticamente y de acuerdo a ello se procedió a seleccionar el o los CPE's con mejores resultados.

OPTIMIZACION DEL POLIMERO CATIONICO

De acuerdo a los resultados obtenidos para la formación de complejo, fueron seleccionadas las formulaciones B y D, a partir de dichas formulaciones se procedió a optimizar el uso del polímero catiónico. La razón de dicha optimización se debe a que el polímero presenta un costo mayor que el de el polímero aniónico.

Una vez seleccionadas las formulaciones se procedió a fijar las concentraciones del polimero catiónico con las cuales se pretendía obtener una buena formación del CPE.

Se fijaron 4 concentraciones las cuales iban reduciendo del orden de 1% a 0.25% de manera homogénea. Para la formulación B se elaboraron 4 formulaciones diferentes así mismo para la formulación D.

Composición química de las formulaciones del grupo B:

FORMULACION	CONCENTRACION N °% POLIMERO CATIÓNICO (+)	CONCENTRACION % POLIMERO ANIÓNICO (-)	PI DEL POLIELECTROLITO (+)	PI DEL POLIELECTROLITO (-)
B1	1%	1%	6.0	3.9
B2	0.75%	1%	6.0	7.6
B3	0.5%	1%	3.8	3.9
B4	0.25%	1%	3.8	7.6

Composición química de las formulaciones del grupo D:

FORMULACION	CONCENTRACION (%) POLIMERO CATIÓNICO (+)	CONCENTRACION (%) POLIMERO ANIÓNICO (-)	PI POLIELECTROLITO (+)	PI POLIELECTROLITO (-)
D1	1%	1%	6.0	3.9
D2	0.75%	1%	6.0	7.6
D3	0.5%	1%	3.8	3.9
D4	0.25%	1%	3.8	7.6

Se prepararon las soluciones de los polímeros de acuerdo al % de concentración requerido, así mismo se ajustaron los pH como se mencionó anteriormente, y se procedió a elaborar las formulaciones con 4 repeticiones midiendo los mismos parámetros que para las formulaciones iniciales (peso húmedo y seco del CPE).con el fin de poder seleccionar la formulación que requiere menos polímero catiónico y que sigue presentando un buen rendimiento en cuanto a la formación del CPE.

La selección se hizo por medio de un análisis varianza comparando las formulaciones B y D entre ellas misma y de igual manera se compararon la formulación B contra la D.

APLICACIÓN DE LOS CPE'S EN TECNOLOGÍA AMBIENTAL

RETENCIÓN DE METALES PESADOS

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS **Capacidad de Retención de metales del CPE a nivel Laboratorio.**

Las formulación seleccionada para este trabajo fue evaluada en cuanto a su captación de metales de manera independiente bajo diferentes condiciones que consideramos de importancia como lo son: el pH de la solución de metales, Concentración del metal, Temperatura de las soluciones (metales).

Se utilizó 1 formulación ya conocida: D3

Preparación de las soluciones de Polielectrolitos y Metales Pesados

Se prepararon soluciones del polielectrolito catiónico y aniónico con concentración y pH conocido, disolviendo el polímero en agua desionizada y ajustando el pH con una solución de NaOH ó HCl 1 y 0.1M.

Se prepararon soluciones estándar de Plomo (Pb), Cobre (Cu), Niquel (Ni) y Zinc (Zn) a 1000 p.p.m. para luego hacer las diluciones de los mismos a 30 partes por millón (p.p.m). respectivamente. Las soluciones de metal fueron ajustadas a pH 3, 4.5 y 6 con NaOH y ácido sulfurico (H_2SO_4), las temperaturas fueron ajustadas a 20°C y 35°C con la ayuda de un potenciómetro y una placa de calentamiento.

Se utilizó para evaluar la retención de metales del CPE D3 un volumen fijo de muestra de 7.5 ml para ambos polielectrolitos y para la solución de metales.

Capacidad de retención de metales para las formulación D3

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Una vez preparadas las soluciones de los polielectrolitos y de los metales estas fueron mezcladas de acuerdo al pH de la solución de metal y con el volumen de muestra establecido.

FORMULACION	pH DE LA SOLUCIÓN DE METAL	TEMPERATURA SOLUCIÓN DE METAL °C.	pH DEL POLIELECTROLITO (+)	pH DEL POLIELECTROLITO (-)
D3,Zn1	3(1)	20	3.8(2)	7.6(3)
D3,Zn2	4.5(1)	20	3.8(2)	7.6(3)

FORMULACION	pH DE LA SOLUCIÓN DE METAL	TEMPERATURA SOLUCIÓN DE METAL.°C	pH DEL POLIELECTROLITO (+)	pH DEL POLIELECTROLITO (-)
D3,Zn3	6(1)	20	3.8(3)	7.6(2)
D3,Zn4	3(1)	35	3.8(2)	7.6(3)
D3,Zn5	4.5(1)	35	3.8(2)	7.6(3)
D3,Zn6	6(1)	35	3.8(3)	7.6(2)
D3,Cu1	3(1)	20	3.8(2)	7.6(3)
D3,Cu2	4.5(1)	20	3.8(2)	7.6(3)
D3,Cu3	6(1)	20	3.8(3)	7.6(2)
D3,Cu4	3(1)	35	3.8(2)	7.6(3)
D3,Cu5	4.5(1)	35	3.8(2)	7.6(3)
D3,Cu6	6(1)	35	3.8(3)	7.6(2)
D3,Ni1	3(1)	20	3.8(2)	7.6(3)
D3,Ni2	4.5(1)	20	3.8(2)	7.6(3)
D3,Ni3	6(1)	20	3.8(3)	7.6(2)
D3,Ni4	3(1)	35	3.8(2)	7.6(3)
D3,Ni5	4.5(1)	35	3.8(2)	7.6(3)
D3,Ni6	6(1)	35	3.8(3)	7.6(2)
D3,Ni5	4.5(1)	35	3.8(2)	7.6(3)
D3,Ni6	6(1)	35	3.8(3)	7.6(2)
D3,Pb1	3(1)	20	3.8(2)	7.6(3)

FORMULACION	pH DE LA SOLUCIÓN DE METAL	TEMPERATURA SOLUCIÓN DE METAL.°C	pH DEL POLIELECTROLITO (+)	pH DEL POLIELECTROLITO (-)
D3,Pb2	4.5(1)	20	3.8(2)	7.6(3)
D3,Pb3	6(1)	20	3.8(3)	7.6(2)
D3,Pb4	3(1)	35	3.8(2)	7.6(3)
D3,Pb5	4.5(1)	35	3.8(2)	7.6(3)
D3,Pb6	6(1)	35	3.8(3)	7.6(2)

(1) Solución metálica base a la cual se le agregaran los polielectrolitos.

(2) Solución de polielectrolito adicionada de manera homogénea sobre la solución metálica.

(3) Solución de polielectrolito adicionada al final para la formación y retención del CPE.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Una vez realizada la mezcla fue dejada a interactuar por espacio de 15

minutos bajo agitación en un shaker (Lab-line Incubator Shaker Orbit) a 150 r.p.m.

Finalmente para su análisis el CPE fue removido utilizando una espátula y pinzas de disección, posteriormente se procedió a analizar la cantidad de metales que fueron atrapados en el complejo y el remanente presente en la fase acuosa. La captación de metales fue medida con un espectrofotómetro de emisión de plasma.

Medición de Metales

Debido a que dentro de la formulación para remoción de metales se presentaron 2 fases, fue requerido analizar las fases por separado, esto con el fin de conocer la cantidad de metales retenidos por el CPE y los remanentes de los mismo presentes en el sobrenadante.

El CPE debido a que presento muestras elevadas de compuestos orgánicos, fue necesario aplicar una combustión seca como medio de tratamiento de estas muestras (APHA,1992), por lo anterior el CPE fue puesto a calcinar en una mufla a 300°C hasta obtener las cenizas, posteriormente los crisoles fueron retirados de la mufla y puestos al desecador para reducir la temperatura de la muestra.

Las cenizas del CPE fueron digeridas con 7.5 ml de ácido nítrico concentrado (HNO_3) y toda la muestra se calentó a 100°C por 10 minutos ó hasta que se disolvieran todas las cenizas dentro de la solución.

Finalmente una vez disueltas las cenizas el contenido del crisol se depositó en un matraz de aforación de 25 ml y se diluyo hasta la marca con agua bidestilada, para posteriormente ser analizada la muestra en el ICP. Estas diluciones a 25 ml a partir de los volúmenes obtenidos de las muestras se realizaron con el fin de proporcionar una medición dentro de los rangos establecidos por el espectofotómetro.

El sobrenadante debido a que presentaba residuos del CPE que no pudieron ser eliminados, fue filtrado utilizando un embudo bushner, un matraz kitazato una bomba de vacío y un papel filtro No.1 esto con el fin de eliminar los residuos de CPE que pudieran interferir con la medición de los metales; las soluciones una vez libres de residuos orgánicos fueron analizadas en el espectofotómetro de emisión de plasma.

Las soluciones filtradas no requirieron ser diluidas debido a que se esperaban concentraciones dentro de los rangos de operación del espectrofotómetro de emisión de plasma.

RETENCIÓN DE SÓLIDOS

Elaboración de soluciones

Se prepararon las soluciones de polielectrolito catiónico y aniónico de las formulaciones B2,B3,D2,D3 con concentración y pH conocido, disolviendo el polímero en agua desionizada y ajustando el pH con una solución de NaOH ó HCl 1 y 0.1M.

A demás para poder evaluar cada uno de los polielectrolitos de manera independiente, se prepararon 5 blancos de 50 ml cada uno, dichas soluciones correspondientes a los diferentes polielectrolitos catiónicos y aniónicos. De las 5 formulaciones 4 fueron soluciones catiónicas y 1 aniónica a los diferentes pH's y concentraciones de las formulaciones B2,B3,D2,D3.

Al mismo tiempo se elaboraron soluciones poliméricas a una concentración de 2.5 g/l de los polimeros floculantes marcados con los números C-492 y C-494 los cuales son utilizados para el espesamiento y secado de lodos en el proceso de tratamiento de aguas residuales. Dichos polimeros fueron proporcionados por Servicios de Agua y Drenaje de Monterrey para su estudio comparativo en nuestros laboratorios.

Se tomo una muestra de 5 litros (l) de lodo provenientes de los digestores de la planta de tratamientos de Agua y Drenaje de Monterrey con el fin de observar y

poder evaluar las propiedades de retención de sólidos y clarificación que presentan las soluciones de los CPE's B2,B3,D2,D3 al formar el CPE dentro de un lodo proveniente de digestores.

Se utilizó para evaluar la retención de sólidos del CPE B2,B3,D2,D3 un volumen fijo de muestra de 50 ml para ambos polielectrolitos y para los lodos.

Capacidad de retención de sólidos para las formulaciones B2,B3,D2 y D3

Una vez preparadas las soluciones de los polielectrolitos y medido el volumen de las 3 muestras, estas fueron mezcladas poniendo la muestra problema (en este caso los 50 ml de lodo) en un matraz y agregando primeramente de manera homogénea el polielectrolito con pH mas cercano a la muestra, para posteriormente agregar el polielectrolito restante.

Seguidamente los matraces fueron introducidos a un shaker (Lab-line Incubator Shaker Orbit) con agitación por 15 minutos y 150 r.p.m., se retiraron los matraces del shaker y se procedió a separar evaluar la retención de sólidos.

Los experimentos fueron llevados a cabo por triplicado para su validez estadística, así mismo dichos experimentos son preliminares.

Para poder evaluar los blancos simplemente se tomaron 50 ml de la solución de polielectrolito y fue mezclada con los 50 ml del lodo y llevada a agitación por 15 minutos a 150 r.p.m.

En el caso de los polímeros C-492 y C-494 fueron disueltos en agua desionizada a una concentración de 0.25%, utilizando una barra magnética y placa de

agitación. Los polímeros fueron aplicados utilizando 50ml de solución sobre 50 ml de lodo, posteriormente fueron agitados por 15min a 150 r.p.m.

Formulaciones evaluadas:

FORMULACION	LODOS	PH POLIELECTROLITO (-)	PH POLIELECTROLITO (+)
B2	7.27	7.6	6
B3	7.27	7.6	6
D2	7.27	7.6	3.8
D3	7.27	7.6	3.8
C-492	7.27		
C494	7.27		
Blancos	7.27	7.6	6 y 3.8

Evaluación de la retención de sólidos

Una vez mezcladas y agitadas las soluciones, se procedió a filtrar el sobrenadante en un embudo con una fina malla metálica, posteriormente se procedió a pesar los sólidos retenidos en el filtro. con una balanza analítica Se utilizó la misma metodología para los 3 diferentes tipos de mezclas.

BIODEGRADACION DEL CPE SELECCIONADO

Prueba a nivel Laboratorio

Microorganismo

El microorganismo utilizado en este trabajo fue: una cepa de *Serratia marscesens* proporcionada por el Laboratorio de Bacteriología Básica del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la U.A.N.L.

Mantenimiento de la Cepa

Las cepas fueron activadas en caldo nutritivo y se mantuvieron por medio de resiembras periódicas en tubos con agar nutritivo, pH 7.0 en refrigeración

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Inóculo

A partir de los cultivos en agar nutritivo se tomaron dos asadas y se transfirieron a matraces Erlenmeyer de 250ml con 50 ml de caldo nutritivo. Después de 16 horas (h) de incubación en agitación en un agitador Lab-Line a 150 rpm y 35 °C, se procedió a inocular 6 matraces nefelométricos que contenían 50 ml de caldo nutritivo, cada matraz fue inoculado en 1%v/v (0.5ml) posteriormente fueron introducidos en un agitador Lab-Line a 150 r.p.m y 35°C hasta obtener el número de células aproximadas a $1 \cdot 10^8$ cel/ml en cada matraz nefelométrico.

Para poder conocer el número de células en crecimiento se realizó un monitoreo cada 2 horas utilizando los estándares nefelométricos de MacFarland.

Se realizó la preparación de los estándares nefelométricos de McFarland:

1. Se tomaron 12 tubos limpios y con tapón.
2. Se prepararon 135ml de caldo nutritivo en un matraz al 1%v/v de ac.sulfúrico en agar nutritivo.
3. Se prepararon 20 ml de caldo nutritivo en un matraz al 1%v/v de Cloruro de Bario(0.164g de BaCl₂)
4. Se llevaron a cabo las diluciones en tubos para poder leer en el Fotocolorímetro de Klett-Summerson.

TUBO	Ac.sulfúrico 1%	BaCl	Densidad Bacterias . ml (1*10 ⁸)
0'	10 ml	0	0
1	9.95	0.05	1.5
2	9.9	0.1	3
3	9.8	0.2	6
4	9.7	0.3	9
5	9.6	0.4	12
6	9.5	0.5	15
7	9.4	0.6	18
8	9.3	0.7	21
9	9.2	0.8	24
10	9.1	0.9	27
11	9.0	1.0	30

5. Cada dos horas se introducían los estándares en el fotocolorímetro y se llevaba a cabo la medición de las células en crecimiento en los matraces nefelométricos, hasta obtener el número de cel/ml deseado.

Una vez obtenido el número de cel/ml deseadas en cada matraz se procedió vaciar frente a mechero el contenido de 3 matraces en cada bote de centrifuga estéril se llevo a cabo la centrifugación a 4,000 r.p.m con un rotor JA-14 y una centrifuga Beckman (Modelo J2-21), una vez centrifugadas las muestras se procedió a decantar en condiciones estériles y se llevo a cabo un lavado de las células con 150 ml de solución isotónica, se repito una vez mas el procedimiento de centrifugación, decantado y lavado, y se centrifugo una vez mas para resuspender las células y poder llevar a cabo la transferencia de 1ml a cada matraz Erlenmeyer de 250 ml de capacidad los cuales contenian 100 ml del medio de cultivo denominado 838 modificado, una mezcla de sales y vitaminas:

KH_2PO_4 , 0.4g.; K_2HPO_4 , 0.1g.; $\text{MgCl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2g.; NaCl , 0.1 g.; CaCl , 0.02 g.;

FeCl_3 , 0.01 g.; NaMo , 0.002 g.; NH_4Cl , 1.5 g.; Solución Vitamínica, 1.5 g.; Agua Destilada 1000 ml.; pH 7.3 ± 0.1 (Arevalo Katiushka,1996); y las muestras obtenidas de los formulados.

Preparación de las muestra

A partir del CPE D3 elaborado, se obtuvieron aproximadamente 40 gramos del CPE centrifugado a 10,000 r.p.m por espacio de 20 minutos, cada muestra del

CPE fue pesada en una balanza analítica para obtener el peso de 1 gramo de muestra inicial.

Las muestras se esterilizaron por tratamiento con Luz Ultravioleta (UV) con una lámpara (Modelo UVGL-25) durante 30 minutos. Se colocó 1g de muestra en cada matraz con el medio de sales y el inóculo sumando un total de 7 matraces para cada fecha de muestreo. Estos matraces se incubaron a 35°C y 150 rpm..

Se introdujeron 5 muestras blanco dentro del medio de sales sin el inóculo, con el fin de evaluar la pérdida en peso provocada por la acción mecánica a la que el CPE fue sometido, se llevó a cabo el muestreo de la misma forma que los anteriores.

De igual manera se realizó una pérdida en peso para el tiempo cero ($t=0$), el cual fue evaluado dejando 5 minutos la muestra de 1g en el medio de sales sin agitación y secando después en una campana de flujo laminar por 10 minutos.

Para cada fecha de muestreo se recuperaron 8 matraces, las fechas de muestreo fueron a los 7,14,19,34 y 60 días de incubación.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

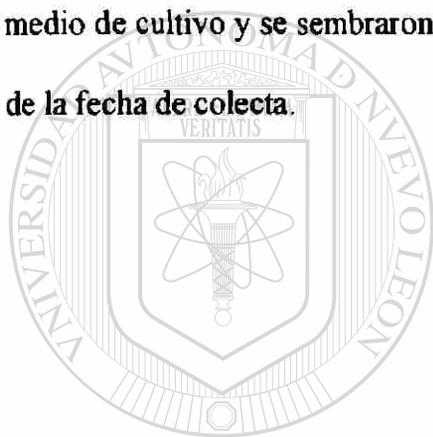
Determinación de Pérdida en Peso

El CPE que se recuperó de 4 matraces con la ayuda de una pinza, fueron pesados en una balanza analítica y llevados a secar en una campana de flujo laminar por espacio de 1 hora, una vez eliminado el exceso de líquido se procedió a pesar de nuevo en una balanza analítica para obtener el peso final. El porcentaje de pérdida en peso se obtuvo restando el peso final al peso inicial de cada muestra del complejo polielectrolito y multiplicando por 100. Cada muestra será considerada una repetición.

Después de ser obtenidos los datos de pérdida de peso, las muestras restantes de los matraces fueron utilizadas para medir otros parámetros.

Determinación de Crecimiento Bacteriano

Este parámetro se midió por medio de cuenta viable en placa al inicio del experimento y en cada fecha de colecta. Se prepararon diluciones decimales del medio de cultivo y se sembraron en placas de petri con agar nutritivo, para la muestra de la fecha de colecta.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESULTADOS

CARACTERIZACION DE LOS POLIMEROS

Se llevo a cabo la caracterización física y química de la pectina y el quitosan, con el fin de poder conocer los polímeros mas a fondo y así elaborar las formulaciones adecuadas para la mejor formación de los CPE's.

Las propiedades físicas que presentaron estos polímeros se describen en la **(Tabla 1)**.

Así mismo los resultados obtenidos de la caracterización química, como Grupos ionizables, pK de los polímeros y pH óptimo para la mezcla, se presentan en la **(Tabla 2)**, junto con las **(Figuras 1 y 2)**.

Por otro para la determinación de la Viscosidad intrínseca de los polímeros, así como el P.M del polímero catiónico requirió llevar a cabo la determinación de la viscosidad relativa, viscosidad específica, viscosidad reducida y de la viscosidad por lo cual los datos se presentan en la **(Tabla 3 y 4)**, en la **(Figura 3 y 4)** se presentan los datos ajustados por medio de una regresión lineal y la extrapolación de los mismos hasta el eje de las "Y" con el fin de encontrar el punto de intersección, obteniéndose así la viscosidad intrínseca.

La viscosidad intrínseca calculada para la pectina fue de 110.5ml/g y para el quitosan de 169.5 ml/g.

Peso Molecular promedio calculado con la ecuación de Mark-Houink para el quitosan se presenta en la **(Tabla 5)**, así mismo la determinación de los G.I. con éste último parámetro ver **(Tabla 5 a)**.

Los análisis de Infrarrojo de los polímeros utilizados para la formación de CPE's se muestran en la (Figura 5 y 6).

La pectina mostró la banda de absorción característica del grupo C-O a 1023 cm^{-1} , del grupo OH a 3400 cm^{-1} y para el grupo COOH a 1746 cm^{-1} aproximadamente. El quitosán además de presentar la banda de absorción del grupo OH a 3411 y las bandas de absorción en la región de la huella digital correspondientes al grupo C-O, presentó una banda de absorción a 1654 cm^{-1} correspondiente al grupo amina I.

OBTENCIÓN DE LOS CPE's

Se prepararon un total de 4 formulaciones, de acuerdo al número de combinaciones posibles al tener 2 variables para cada uno de los polímeros catiónico y aniónico: el pK y el pH óptimo obtenidos de las titulaciones potenciométricas.

De las 4 formulaciones elaboradas A, B, C y D, los resultados del rendimiento en la formación del CPE en gramos de peso húmedo y peso seco se muestran en la (Tabla 6, Figura 7 a,b y c ,8 y9). La formulación B con un rendimiento promedio de CPE de 75.133g en peso húmedo fue la que mejor rendimiento obtuvo seguida por la formulación D con 64.166g y por último las formulaciones A y C respectivamente.

En cuanto a los rendimientos de CPE en peso seco la formulación D con 10.433g fue la que mejor rendimiento en la formación de CPE presentó, seguida por la formulación B con 8.66g y las formulaciones A y C.

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente por medio de un análisis de varianza, los resultados arrojados por dicho análisis demostraron una alta

diferencia significativa entre las diferentes formulaciones tanto para el rendimiento en peso húmedo ($F=290.324$; g.l.=12; $P<0.01$) como para el rendimiento en peso seco respectivamente ($F=12.412$; g.l.=12; $P<0.01$).

Se llevo a cabo la prueba de rango múltiple de Tukey a un nivel de significancia de 0.05, para los experimentos del rendimiento promedio del CPE en peso húmedo y en peso seco, mostrándose 4 diferentes grupos de homogeneidad para los rendimientos en peso húmedo y 3 grupos de homogeneidad para los rendimientos en peso seco ver (Tabla 7 y 8).

En base a los resultados estadísticos obtenidos, fueron seleccionadas las formulaciones B y D para optimizar el polímero catiónico el cual tiene mayor costo que el polímero aniónico que además es fácil de conseguir en el mercado mexicano.

OPTIMIZACION DEL POLIMERO CATIONICO

De las 2 formulaciones seleccionadas: B y D, se elaboraron 4 formulaciones por cada grupo, donde el rendimiento en la formación de CPE fue medido de igual manera que en las formulaciones iniciales en base a peso húmedo y peso seco en gramos ver (Tabla 9 y 10).

En las formulaciones del grupo B: se observo mejor rendimiento de CPE en peso húmedo en la formulación B1, con la cual se obtuvieron un promedio de 75.133g del complejo, está formulación fue seguida en rendimiento por la formulación B2 con 71.133g y finalmente las formulaciones B3 y B4 ver (Figura 10). En las formulaciones del grupo B donde el rendimiento fue medido en peso seco de CPE, el rendimiento encontrado fue mayor en la formulación B2 con 13.975g ,

seguida por muy poca diferencia en peso de la formulación B3 y finalmente por las formulaciones B1 y B4 ver (Figura 11).

Para las formulaciones del grupo D el rendimiento promedio en peso húmedo de CPE presento un mayor rendimiento en la formulación D3 con 64.35g seguida por muy poca diferencia en peso de las formulaciones D1 y D2 y por último la formulación D4 ver la (Figura 12). No obstante en cuanto al rendimiento en peso seco la formulación que presento mejor rendimiento fue la D1 con 10.433g seguida por la D2 y las formulaciones D3 y D4 ver la (Figura 13).

Se llevo a cabo un análisis de varianza donde se evaluó la diferencia de rendimiento promedio del peso húmedo y el peso seco, entre las formulaciones del mismo grupo (B1, B2, B3 y B4) y D1, D2, D3 y D4).

Los resultados obtenidos del análisis de varianza, arrojaron una alta diferencia significativa entre las formulaciones del grupo B, esta alta diferencia significativa se presento para el rendimiento de CPE en peso húmedo y en peso seco respectivamente ($F= 762.809$; $g.l.=14$; $P < 0.01$, $F=42.10$; $g.l.=14$; $P < 0.01$).

La prueba de rango múltiple de Tukey a un nivel de significancia de 0.05, fue llevada a cabo para los experimentos de rendimiento promedio de CPE en peso húmedo y en peso seco de las formulaciones del grupo B y D.

Para el grupo de la formulación B, se presentaron 4 diferentes grupos de homogeneidad para los rendimientos en peso húmedo y 3 grupos de homogeneidad para los rendimientos en peso seco ver (Tabla 11 y 12).

Del análisis de varianza llevado a cabo para las formulaciones del grupo D, se obtuvo una alta diferencia significativa entre estas formulaciones, esta alta diferencia

significativa se presentó para el rendimiento de CPE en peso húmedo y en peso seco respectivamente ($F= 15.937$; $g.l.=14$; $P < 0.01$, $F=6.887$; $g.l.=14$; $P < 0.01$).

En el grupo de la formulación D, se presentaron 2 diferentes grupos de homogeneidad para ambos rendimientos al llevar a cabo la prueba de rangos múltiples de Tukey, ver la (Tabla 13 y 14).

Para poder tener un mejor conocimiento de la capacidad de formación de CPE de las formulaciones, se llevó a cabo un análisis de varianza donde se comparó al grupo de la formulación B con el grupo de la formulación D evaluando su comportamiento para el rendimiento en peso húmedo y seco.

El análisis estadístico realizado para comparar ambos grupos de formulaciones nos presentó, una alta diferencia significativa entre las formulaciones para ambas medidas de rendimiento (Peso Húmedo: $F=65.446$; $g.l.=29$; $P<0.01$ y Peso Seco: $F=27.732$; $g.l.= 29$; $P<0.01$).

Se llevó a cabo la prueba de rango múltiple de Tukey a un nivel de significancia de 0.05, para los experimentos de rendimiento promedio del CPE en peso húmedo y peso seco entre los grupos de formulaciones B y D, mostrándose 6 diferentes grupos de homogeneidad para el rendimientos en peso húmedo y 5 grupos de homogeneidad para los rendimientos en peso seco, ver (Tabla 15 y 16).

APLICACIÓN DE LOS CPE'S EN TECNOLOGÍA AMBIENTAL

RETENCION DE METALES PESADOS

Las pruebas de retención de metales donde se utilizó la formulación D3 para evaluar dicha capacidad, presentó resultados preliminares satisfactorios debido a que se observó que la formulación D3 a concentraciones de metal de 30 p.p.m. tiene una retención de hasta un 86.9% para el Zn a 35°C, los valores de retención de Pb, Cu y Ni obtuvieron buenos resultados de remoción los cuales variaron al igual que el del Zn, dependiendo de la temperatura de la solución de metal y del pH de la misma, los valores de metal no retenidos por el CPE también fueron evaluados y se pueden ver de igual manera en la (Tabla 17,18,19 y 20) y (Figuras 14 ,15,16 y 17).

RETENCION DE SÓLIDOS

Dentro de las pruebas como una posible aplicación de los CPE's, se llevaron a cabo estudios preliminares sobre la capacidad de retención de sólidos, al llevarse a cabo la formación del CPE en lodos provenientes de aguas residuales. Los resultados obtenidos variaron de acuerdo a la formulación de CPE utilizada.

Las soluciones de polielectrolitos o blancos, fueron utilizadas y evaluadas a diferentes concentraciones y pH's para medir su capacidad de retención de sólidos ,la solución de lodo no fue afectada al ser aplicada la solución de el polielectrolito, con lo cual se pudo comprobar que de manera independiente los polielectrolitos no retienen sólidos, en el caso del polielectrolito catiónico ocurría una ligera floculación.

Los polímeros C-492 y C-494 aplicados en la solución de lodos, produjeron una clarificación y retención de sólidos, estos polímeros son el punto de comparación para nosotros, en cuanto a retención de sólidos y clarificación del agua.

Se pudo observar que al llevar a cabo la aplicación de soluciones de polielectrolitos en el lodo, la formación del CPE sí se producía dentro de este tipo de lodos y que a su vez los sólidos eran atrapados dependiendo de la formulación utilizada en el tratamiento, lo cual provocaba una clarificación de el líquido.

Los resultados fueron evaluados en cuanto a peso de CPE obtenido y la claridad del agua. Las formulaciones que se evaluaron y compararon entre si, fueron la formulación B2, B3, D2 y D3.

La formulación que mayor rendimiento en formación de CPE presento fue la formulación D2 seguida de la formulación B3 y la D3 ver la (Tabla 21).

Se llevo a cabo un análisis de varianza el cual nos presento una alta diferencia significativa entre las formulaciones al ser aplicadas sobre lodos ($F= 14.544$, $g.l.=11$; $P<0.01$).

Se llevo a cabo la prueba de rangos múltiples de Tukey, en la cual obtuvimos 2 grupos diferentes de homogeneidad, ver la (Tabla 22).

De las formulaciones evaluadas las que presentaron una mejor claridad en el líquido sobrenadante fue la formulación D2 y D3, ver (Figuras 18 a, b, c y d).

BIODEGRADACION DEL CPE SELECCIONADO

La biodegradación del CPE fue evaluada a nivel laboratorio utilizando una cepa de *Serratia marscensens*, de la cual se estandarizó el número de inóculo a $1.66 \cdot 10^7$ cel/ ml en cada matraz.

La pérdida en peso para el tiempo cero ($t=0$) fue nula, debido a que el CPE no gana ni perdió peso.

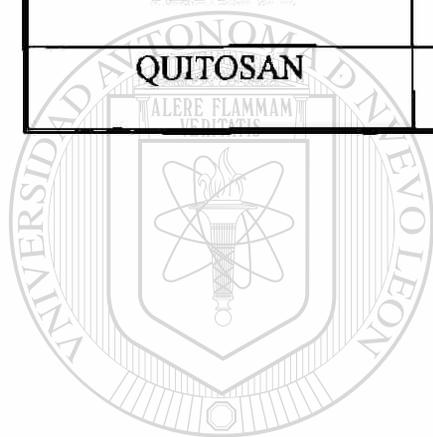
De los blancos que fueron introducidos a incubación sin el microorganismo lo que se pudo observar, fue una pérdida en peso provocada por la acción mecánica a la que el CPE fue sometido al estar en agitación. En el primer muestreo realizado a los 7 días de agitación la pérdida en peso fue del 20%, a los 14 días la pérdida en peso había alcanzado el 30%, la siguiente muestra fue tomada a los 22 días teniendo una pérdida en peso del 50%.

La pérdida en peso del CPE fue evaluada a los 0, 7, 14, 19, 34 y 60 días, observándose una disminución hasta de un 50% a los 7 días, posteriormente la pérdida en peso fue paulatina incrementándose del día 19 al 34 ver la (Figura 19 , 20 a y b), después de esta fecha la muestra ya no se podía recuperar, pero su presencia se podía observar en pequeños fragmentos distribuidos en el medio.

Se llevo a cabo una cuenta viable en placa durante las mismas fechas de muestreo de la pérdida en peso del CPE, observándose un aumento en el número de células/ml a los primeros 7 días de incubación, posteriormente se observo una disminución en el número de células, sin embargo el número de éstas no era inferior al número de células iniciales, se llevo a cabo el monitoreo hasta los 35 días ver la (Figura 21 , 22 a y b).

Tabla 1.- Propiedades Físicas de los Polímeros

POLÍMERO	pH	% DE HUMEDAD
PECTINA	3.20	7.76
QUITOSAN	8.54	2.31



UANL

Tabla 2.- Propiedades Químicas de los Polímeros, obtenidas por Titulación

Potenciométrica.

POLÍMERO	G.I.	pK	pH OPTIMO
PECTINA	$8.1 \cdot 10^{-4}$	3.9	7.6
QUITOSAN	$6.32 \cdot 10^{-3}$	6.0	3.8

G.I.= grupos ionizables disponibles por gramo de muestra.

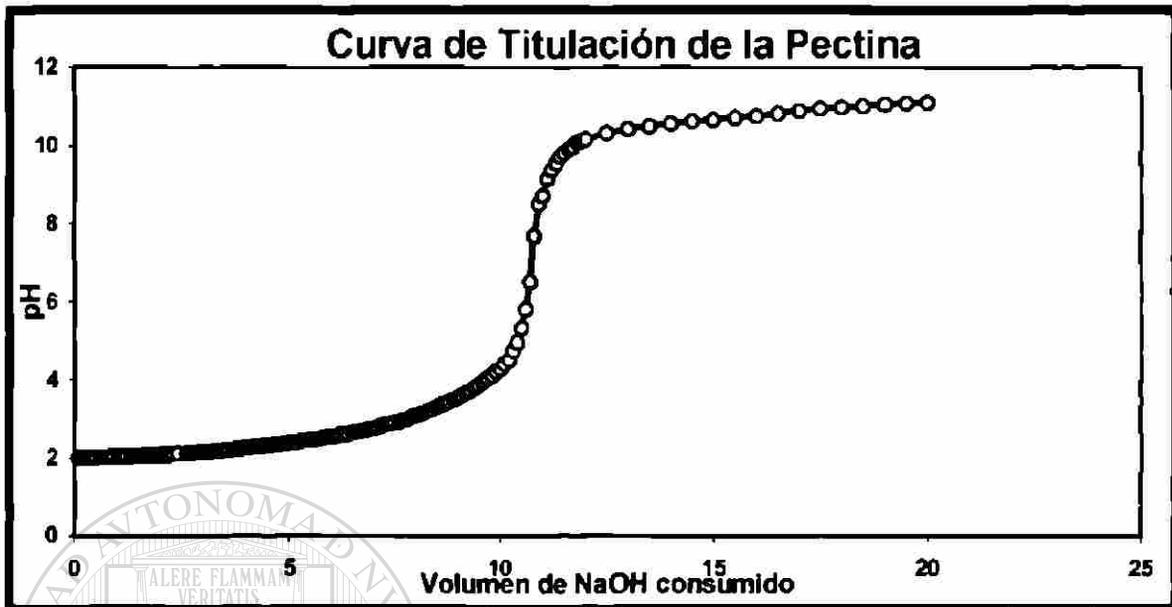


Figura 1.- Curva de Titulación Potenciométrica de la Pectina

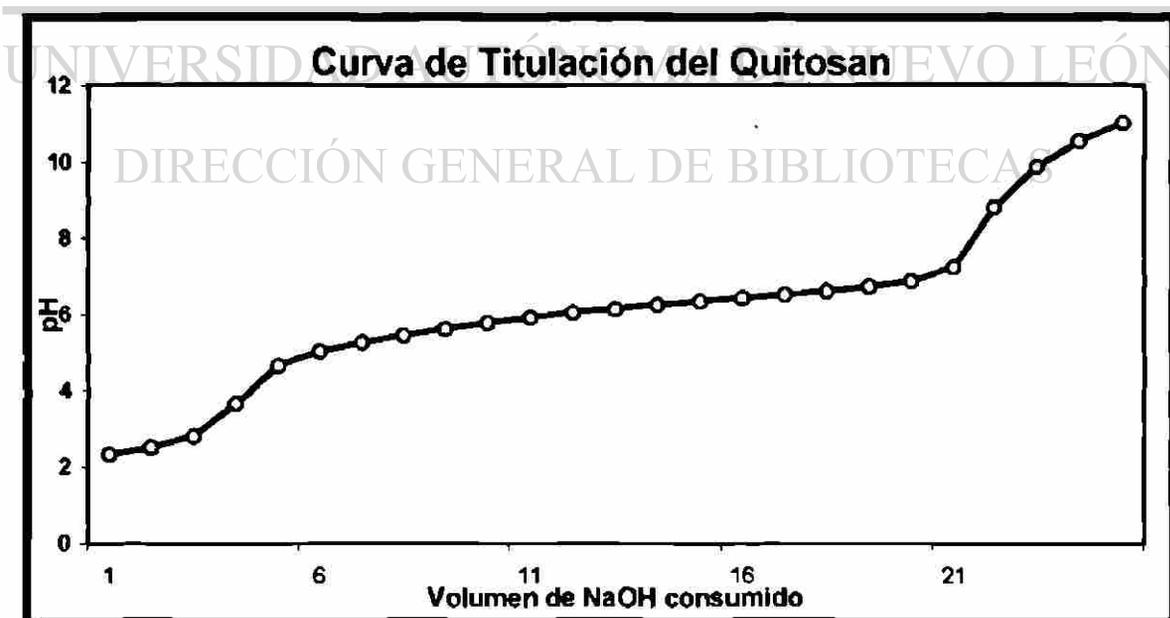


Figura 2.- Curva de Titulación Potenciométrica del Quitosan

Tabla 3.- Determinación de la Viscosidad Intrínseca de la Pectina.

PECTINA	η_r	η_{sp}	VISCOSIDAD REDUCIDA	$\ln \eta_r / c = c^{-1} \ln \eta_r$
0.025	1.0155	0.055	1.1	1.0708
0.05	1.1224	0.1224	1.224	1.1546
0.075	1.1946	0.1946	1.2973	1.1854
0.1	1.2733	0.2733	1.3665	1.2080
0.125	1.3653	0.3653	1.4612	1.2454
0.15	1.4251	0.4251	1.417	1.1808

η_r = viscosidad relativa
 $\ln \eta_r / c$ = viscosidad

η_{sp} = viscosidad específica

Tabla 4.- Determinación de la Viscosidad Intrínseca del Quitosan.

QUITOSAN	η_r	η_{sp}	VISCOSIDAD REDUCIDA	$\ln \eta_r / c = c^{-1} \ln \eta_r$
0.025	1.0866	0.0866	1.732	1.6610
0.05	1.1933	0.1933	1.933	1.7672
0.075	1.3133	0.3133	2.0886	1.8169
0.1	1.4333	0.4333	2.1665	1.7998
0.125	1.5866	0.5866	2.3464	1.8463
0.15	1.7366	0.7366	2.4553	1.8397

η_r = viscosidad relativa
 $\ln \eta_r / c$ = viscosidad

η_{sp} = viscosidad específica

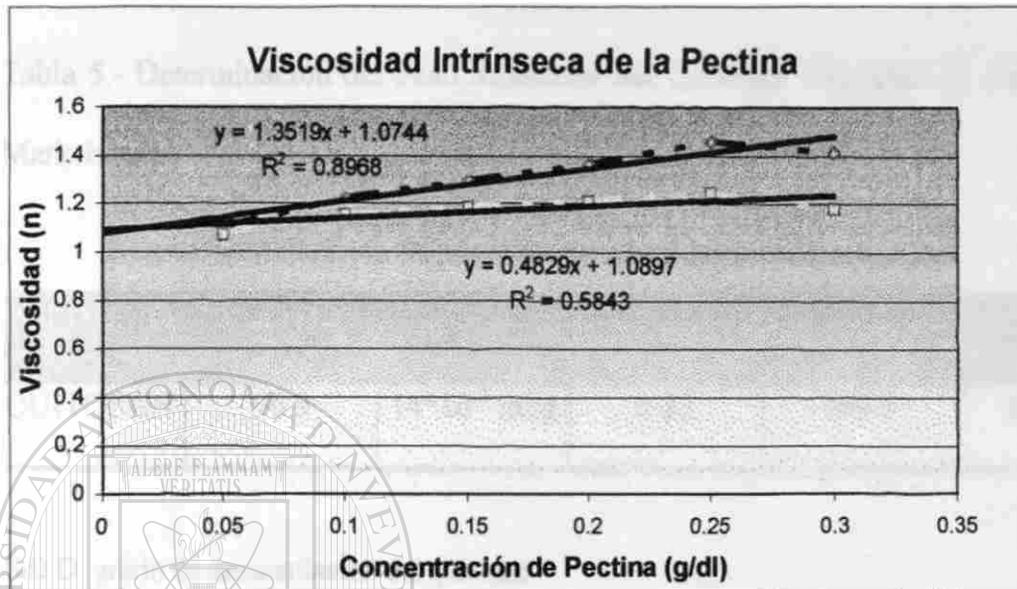


Figura 3.- Viscosidad Intrínseca de la Pectina

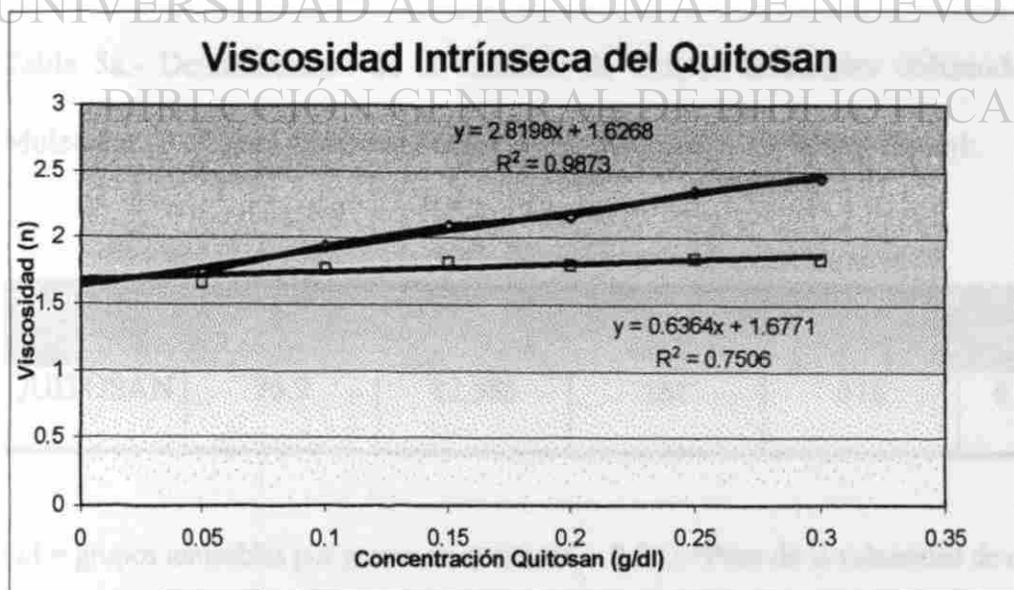


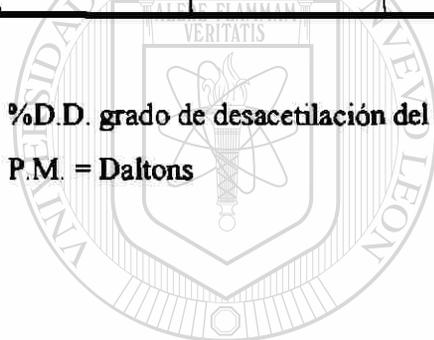
Figura 4.- Viscosidad Intrínseca del Quitosan

Tabla 5.- Determinación del Peso Molecular del Quitosan utilizando la ecuación de Mark-Houink.

POLIMERO	%D.D.	K	α	η	P.M
QUITOSAN	96.9	$14 \cdot 10^{-3}$ ml/g	0.83	169.5	82,985

%D.D. grado de desacetilación del quitosan

P.M. = Daltons



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Tabla 5a.- Determinación de la cantidad de Grupos Ionizables utilizando el Peso Molecular (P.M.) del Quitosan obtenido con la ecuación de Mark-Houink.

POLIMERO	%D.D.	P.M	P.S.Q.	MOLES N-	G.I.
QUITOSAN	96.9	82,985	161	516	$6.22 \cdot 10^{-3}$

G.I.= grupos ionizables por gramo de quitosan. P.S.O.=Peso de la subunidad de quitosan.

Moles de N= moles de N-acetil

Figura 5.- Espectro de Infrarrojo de la Pectina

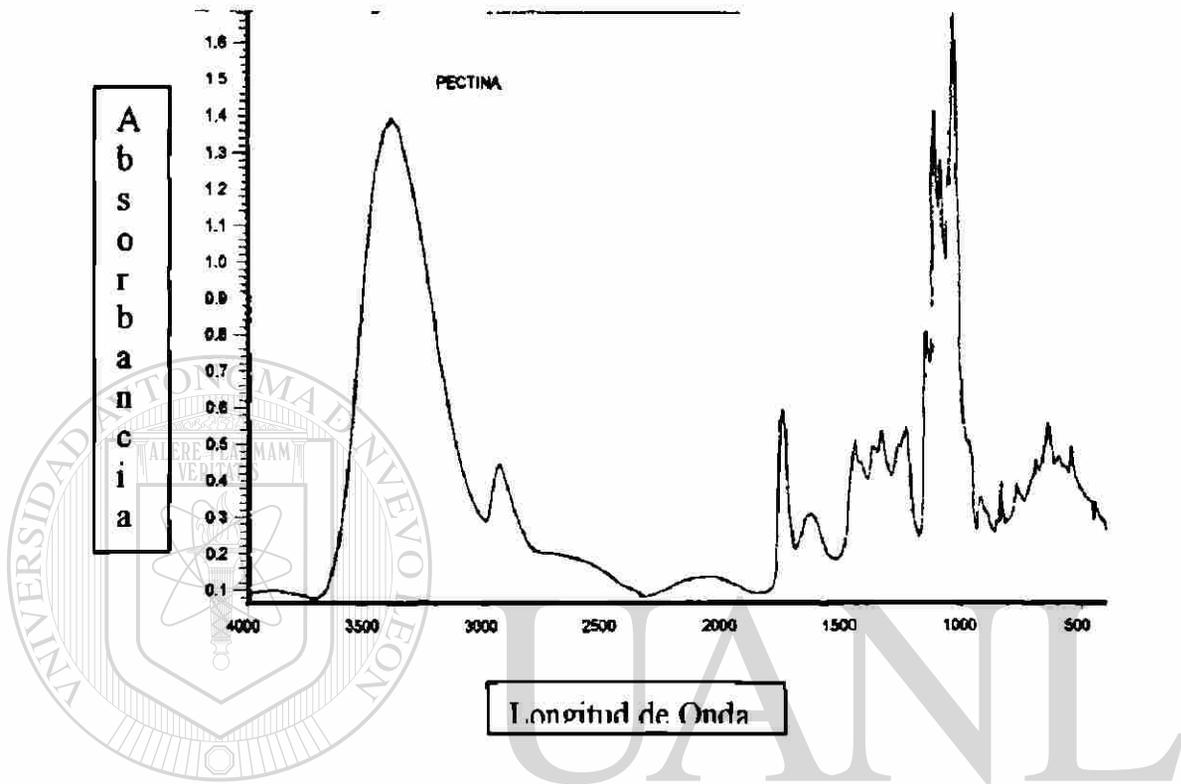


Figura 6.- Espectro de Infrarrojo de Quitosan

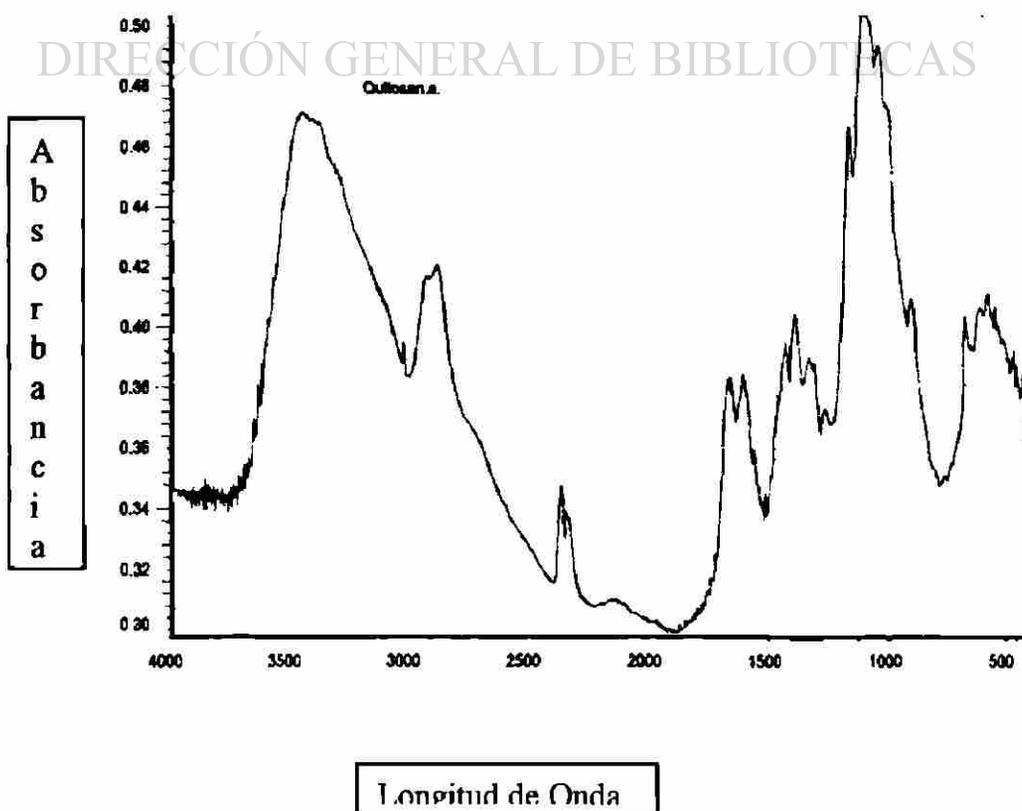


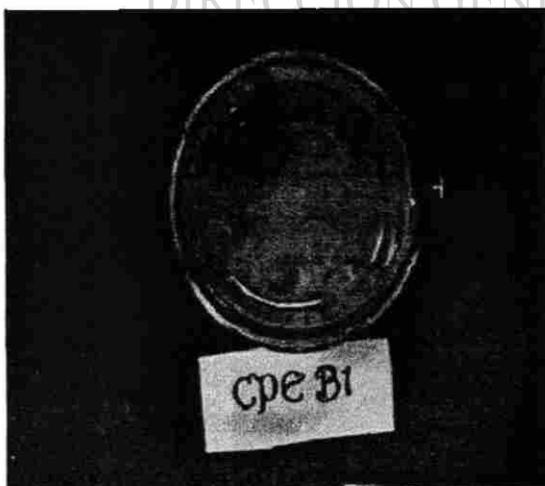
Tabla 6.- Resultados obtenidos en la formación de CPE de las formulaciones A,B,C, y D.

RENDIMIENTO (g)	FORMULACIÓN	g.l.	MEDIA	DEVIACION ESTANDAR (+/-)	ERROR ESTANDAR
PESO HUMEDO	A	3	57.5067	.2759	.1593
	B	3	75.1333	.5774	.3333
	C	4	24.3000	2.6319	1.3159
	D	3	64.1667	4.0079	2.3140
	Total	13	52.8938	20.9225	5.8029
PESO SECO	A	3	6.9667	.4041	.2333
	B	3	8.6667	.1528	8.819E-02
	C	4	5.9750	1.4221	.7111
	D	3	10.4333	1.1930	.6888
	Total	13	7.8538	1.9940	.5530

g.l.= Grados de libertad

g=gramos

Figura 7 a y b.- Complejo Polielectrolito obtenidos a partir de Quitosan-Pectina.



Peso Húmedo



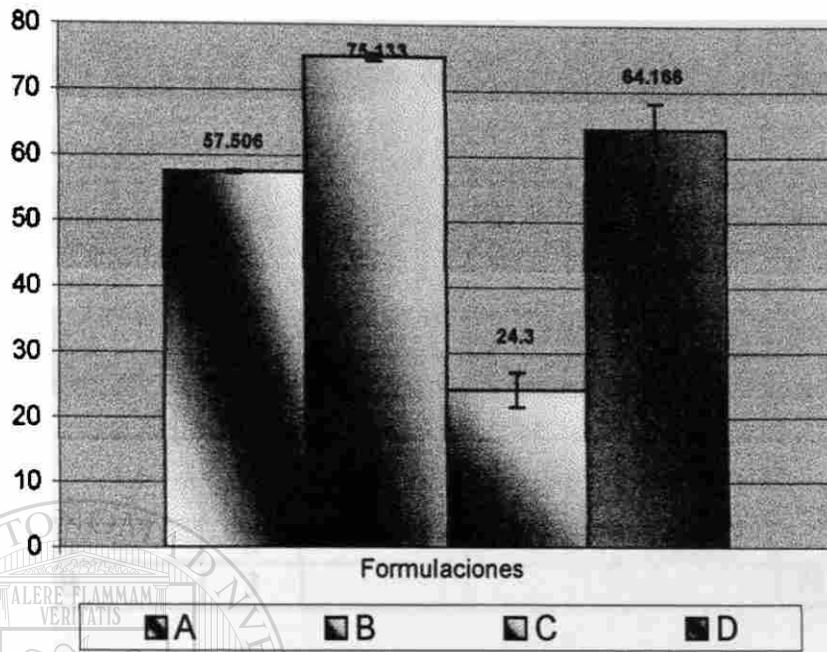


Figura 8.- Rendimiento en Peso Húmedo (g) del CPE de las Formulaciones A,B,C y D.

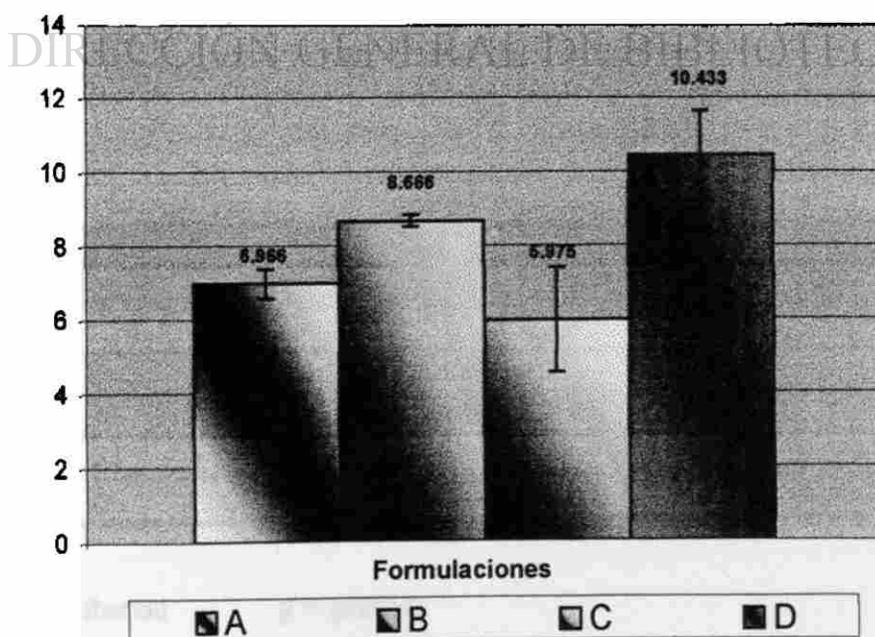


Figura 9.- Rendimiento en Peso Seco (g) del CPE de las Formulaciones A,B,C y D.

Tabla 7.- Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Húmedo (g) de las Formulaciones A,B,C y D.

FORMULACIÓN	g.l	NIVELES DE HOMOGENEIDAD			
		1	2	3	4
C	4	24.3000			
A	3		57.5067		
D	3			64.1667	
B	3				75.1333

g.l. = grados de libertad

g = gramos

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Tabla 8.- Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Seco (g) de las Formulaciones A,B,C y D.

FORMULACIÓN	g.l.	NIVELES DE HOMOGENEIDAD		
		1	2	3
C	4	5.9750		
A	3	6.9667	6.9667	
B	3		8.6667	8.6667
D	3			10.4333

g.l. = grados de libertad

g = gramos

Tabla 9.- Rendimiento de CPE en Peso Húmedo y Seco (g) del Grupo de la Formulación B.

RENDIMIENTO (g)	FORMULACION	g.l.	MEDIA	DESVIACIÓN ESTANDAR (+/-)	ERROR ESTANDAR
PESO HUMEDO	B1	3	75.1333	.5774	.3333
	B2	4	71.7500	1.0661	.5331
	B3	4	53.9500	1.8947	.9474
	B4	4	29.0250	1.7576	.8788
	Total	15	56.2867	18.9752	4.8994
PESO SECO	B1	3	8.6667	.1528	8.819E-02
	B2	4	13.9750	1.7443	.8721
	B3	4	13.5750	1.3048	.6524
	B4	4	4.7750	1.3525	.6762
	Total	15	10.3533	4.1983	1.0840

g.l.=Grados de libertad

Tabla 10.- Rendimiento de CPE en Peso Húmedo y Seco (g) del Grupo de la Formulación D.

RENDIMIENTO (g)	FORMULACION	G.L.	MEDIA	DESVIACIÓN ESTANDAR (+/-)	ERROR ESTANDAR
PESO HUMEDO	D1	3	64.1667	4.0079	2.3140
	D2	4	60.6000	6.8644	3.4322
	D3	4	64.3500	5.6477	2.8239
	D4	4	43.0500	1.3699	.6850
	Total	15	57.6333	10.2442	2.6450
PESO SECO	D1	3	10.4333	1.1930	.6888
	D2	4	8.1000	1.0832	.5416
	D3	4	6.7750	1.0905	.5452
	D4	4	5.4750	2.1930	1.0965
	Total	15	7.5133	2.2379	.5778

g.l.= Grados de libertad

g=gramos

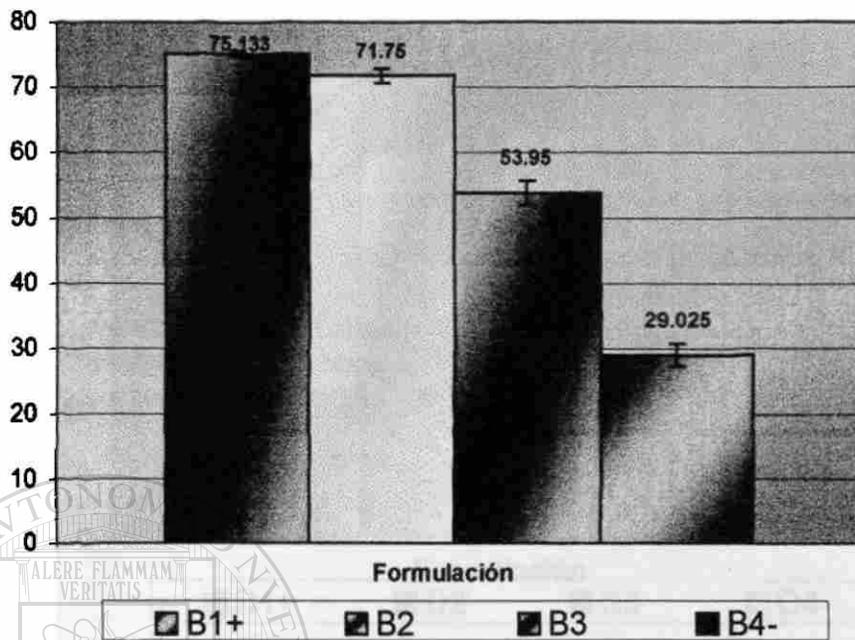


Figura 10 .- Rendimiento en Peso Húmedo (g) del CPE del Grupo de la Formulación B

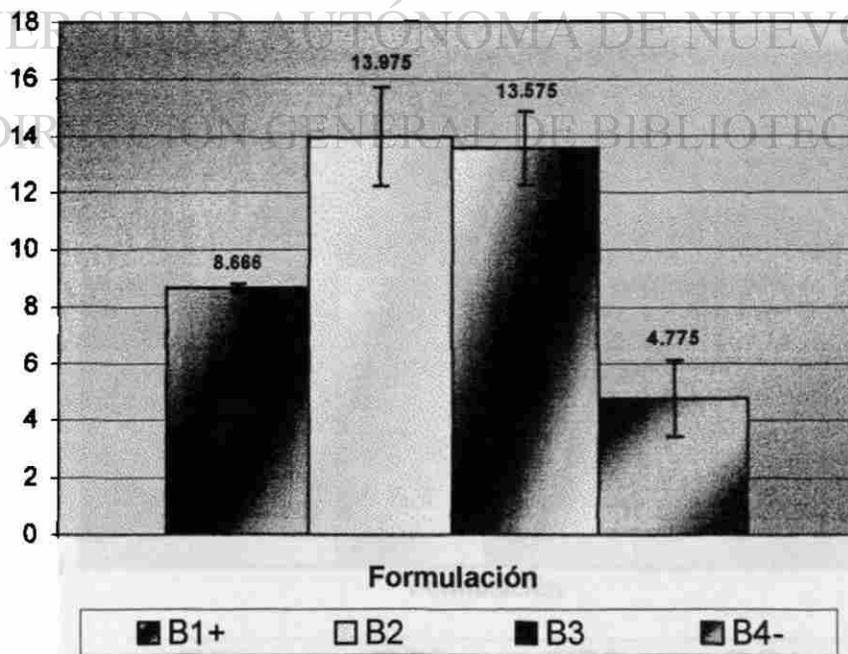


Figura 11 .- Rendimiento en Peso Seco (g) del CPE del Grupo de la Formulación B

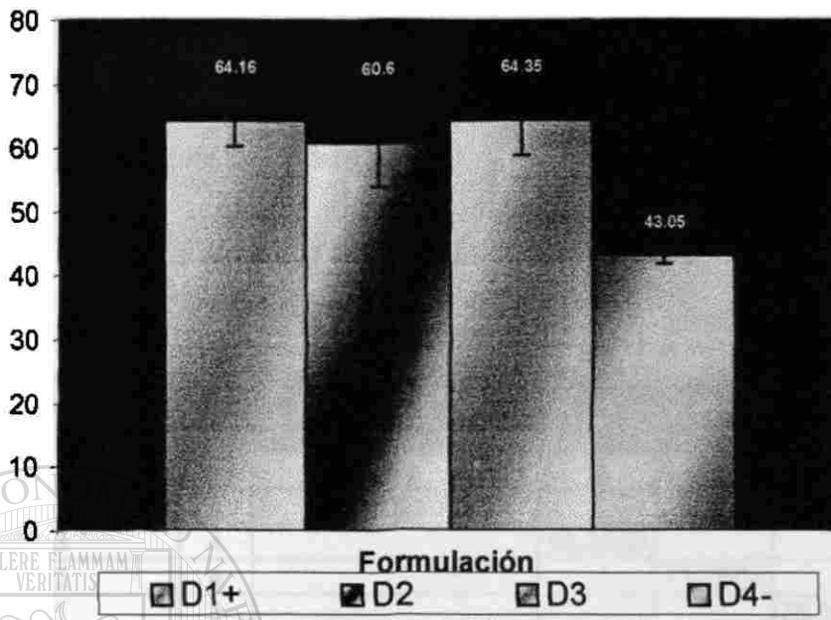


Figura12.- Rendimiento en Peso Húmedo (g) del CPE del Grupo de la Formulación D

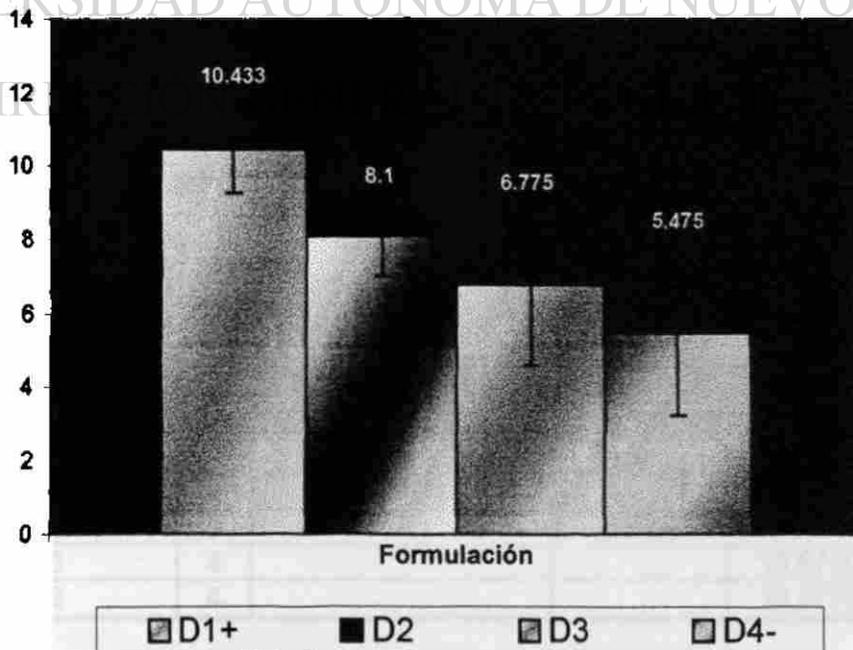


Figura13.- Rendimiento en Peso Seco (g) del CPE del Grupo de la Formulación D

Tabla 11.- Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Húmedo (g) de las Formulaciones del Grupo B.

FORMULACIÓN	g.l.	NIVELES DE HOMOGENEIDAD			
		1	2	3	4
B4	4	29.0250			
B3	4		53.9500		
B2	4			71.7500	
B1	3				75.1333

g.l. = Grados de libertad

g=gramos

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

Tabla 12.- Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Seco (g) de las Formulaciones del Grupo B.

FORMULACIÓN	g.l.	NIVELES DE HOMOGENEIDAD		
		1	2	3
B4	4	4.7750		
B1	3		8.6667	
B3	4			13.5750
B2	4			13.9750

g.l. = Grados de libertad

g=gramos

Tabla 13.- Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Húmedo (g) de las Formulaciones del Grupo D.

FORMULACIÓN	g.l	NIVELES DE HOMOGENEIDAD	
		1	2
D4	4	43.0500	
D2	4		60.6000
D1	3		64.1667
D3	4		64.3500

g.l.= Grados de libertad

g= gramos



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Tabla 14.- Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Seco (g) de las Formulaciones del Grupo D.

FORMULACIÓN	g.l	NIVELES DE HOMOGENEIDAD	
		1	2
D4	4	5.4750	
D3	4	6.7750	
D2	4	8.1000	8.1000
D1	3		10.4333

g.l.= Grados de libertad

g=gramos

Tabla 15.- Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Húmedo (g) de las Formulaciones del Grupo B y D.

FORMULACION	g.l	NIVELES DE HOMOGENEIDAD					
		1	2	3	4	5	6
B4	4	29.0250					
D4	4		43.0500				
B3	4			53.9500			
D2	4			60.6000	60.6000		
D1	3				64.1667	64.1667	
D3	4				64.3500	64.3500	
B2	4					71.7500	71.7500
B1	3						75.1333

g.l.= Grados de libertad

g=gramos

Tabla 16.- Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para el Rendimiento en Peso Seco

(g) de las Formulaciones del Grupo B y D.

FORMULACION	g.l.	NIVELES DE HOMOGENEIDAD				
		1	2	3	4	5
B4	4	4.7750				
D4	4	5.4750	5.4750			
D3	4	6.7750	6.7750	6.7750		
D2	4		8.1000	8.1000	8.1000	
B1	3			8.6667	8.6667	
D1	3				10.4333	
B3	4					13.5750
B2	4					13.9750

g.l.= Grados de libertad

g=gramos

Tabla 17.- Retención de Metales Pesados por el CPE D3 a una Temperatura de 25°C.

METAL	pH	T	FASE	ESP mg/l	V.S. (ml)	F.D.
Zn	3	20	Sol	1.012	12	1
Zn	3	20	Gel	5.05	5.2	4.8076
Zn	4.5	20	Sol	1.25	11.9	1
Zn	4.5	20	Gel	5.926	4.8	5.2083
Zn	6	20	Sol	1.14	1.5	1
Zn	6	20	Gel	6	5.9	4.2372
Cu	3	20	Sol	0.447	12.2	1
Cu	3	20	Gel	5.373	12	2.0833
Cu	4.5	20	Sol	0.8919	11.5	1
Cu	4.5	20	Gel	19.2	6.7	3.7313
Cu	6	20	Sol	0.704	12.8	1
Cu	6	20	Gel	6.555	5.8	4.3103

pH= solución metal T = Temperatura metal ESP= Espectofotómetro mg/l

V.S.=Volumen de Solución F.D.= Factor de Dilución

Tabla 18.- Retención de Metales Pesados por el CPE D3 a una Temperatura de 25°C.

METAL	pH	T	FASE	ESP mg/l	V.S. (ml)	F.D.
Pb	3	20	Sol	0.1062	12.2	1
Pb	3	20	Gel	4.935	6.7	3.7313
Pb	4.5	20	Sol	0.1602	11.2	1
Pb	4.5	20	Gel	5.4513	10.5	2.3809
Pb	6	20	Sol	0.4346	14	1
Pb	6	20	Gel	3.2803	10.8	2.3148
Ni	3	20	Sol	1.265	12.5	1
Ni	3	20	Gel	5.722	5.2	4.8076
Ni	4.5	20	Sol	1.574	12.5	1
Ni	4.5	20	Gel	6.3107	6.2	4.0322
Ni	6	20	Sol	6.47	7.7	1
Ni	6	20	Gel	2.1602	6.2	4.0322

pH= solución metal T = Temperatura metal ESP= Espectofotómetro mg/l

V.S.=Volumen de Solución F.D.= Factor de Dilución

Tabla 19.- Retención de Metales Pesados por el CPE D3 a una Temperatura de 35°C.

METAL	pH	T	FASE	ESP mg/l	V.S. (ml)	F.D.
Zn	3	35	Sol	1.11	11.5	1
Zn	3	35	Gel	6.703	5.2	4.8076
Zn	4.5	35	Sol	1.38	10.5	1
Zn	4.5	35	Gel	5.999	4.6	5.4347
Zn	6	35	Sol	6.11	11.3	1
Zn	6	35	Gel	3.226	6	4.1666
Cu	3	35	Sol	0.6	13	1
Cu	3	35	Gel	6.555	6	4.1666
Cu	4.5	35	Sol	0.525	11	1
Cu	4.5	35	Gel	6.773	5.7	4.3859
Cu	6	35	Sol	1.786	11.6	11
Cu	6	35	Gel	3.086	6.2	4.0322

pH= solución metal T = Temperatura metal ESP= Espectofotómetro mg/l

V.S.=Volumen de Solución F.D.= Factor de Dilución

Tabla 20.- Retención de Metales Pesados por el CPE D3 a una Temperatura de 35°C.

METAL	pH	T	FASE	ESP mg/l	V.S. (ml)	F.D.
Pb	3	35	Sol	0.25	11.5	1
Pb	3	35	Gel	5.6101	6	4.1666
Pb	4.5	35	Sol	3.0344	11.7	1
Pb	4.5	35	Gel	4.2425	6.1	4.0983
Pb	6	35	Sol	0.5218	13.2	1
Pb	6	35	Gel	4.2414	6	4.1666
Ni	3	35	Sol	1.18	11.3	1
Ni	3	35	Gel	5.8805	6	4.1666
Ni	4.5	35	Sol	1.417	13.1	1
Ni	4.5	35	Gel	5.6827	6.6	3.7878
Ni	6	35	Sol	6.364	12	1
Ni	6	35	Gel	1.7984	6	4.1666

pH= solución metal T = Temperatura metal ESP= Espectofotómetro mg/l

V.S.=Volumen de Solución F.D.= Factor de Dilución

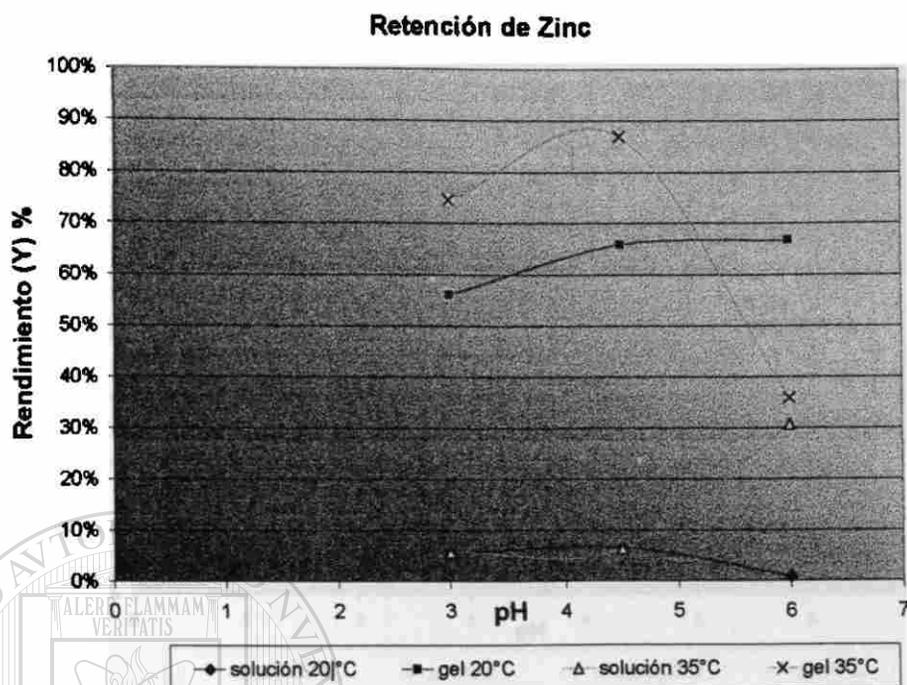


Figura 14.- Retención de Zn a diferentes pH's y Temperaturas de la solución del metal.

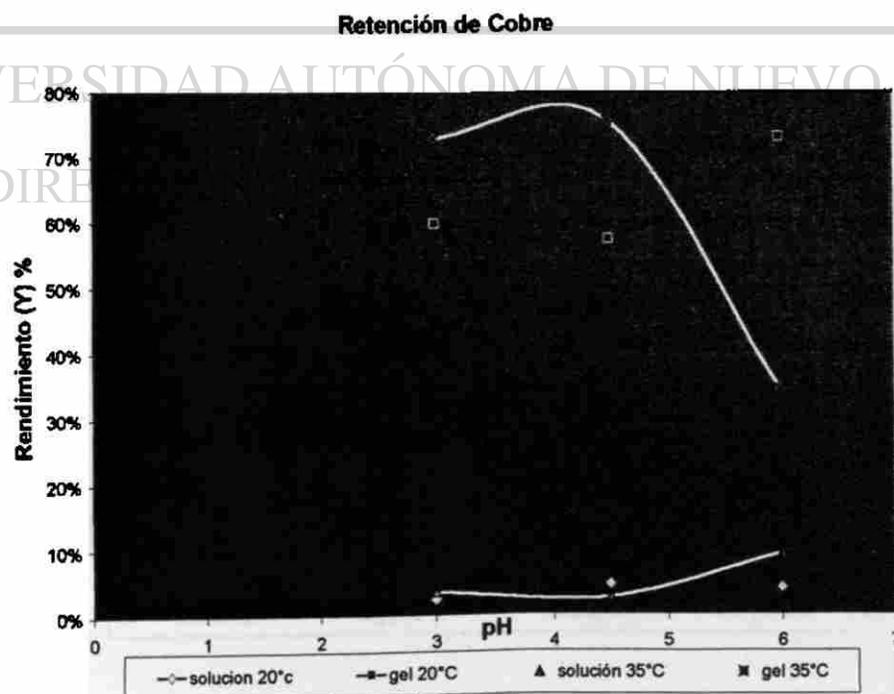


Figura 15.- Retención de Cu a diferentes pH's y Temperaturas de la solución del metal.

Retención de Níquel

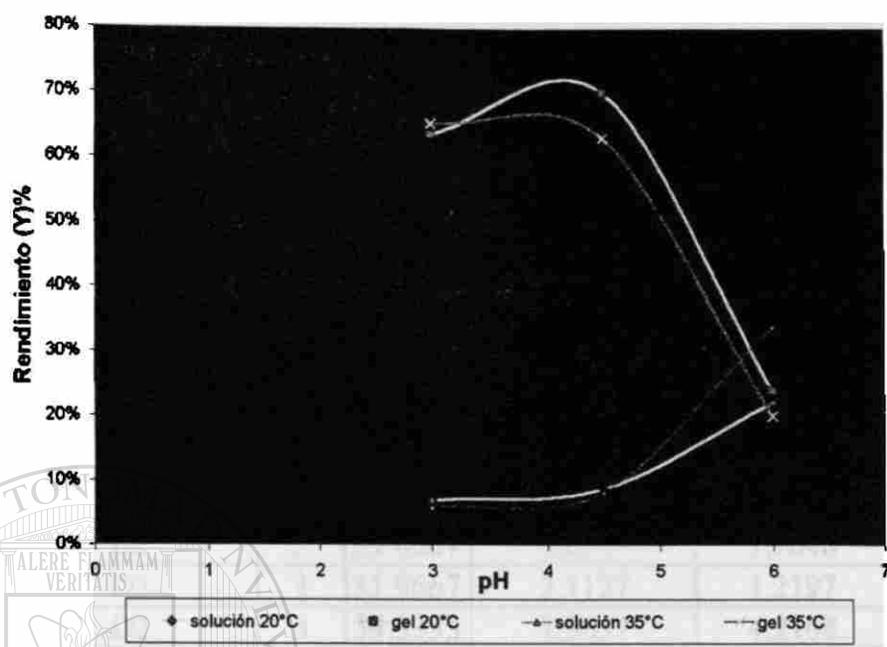


Figura 16.- Retención de Ni a diferentes pH's y Temperaturas de la solución del metal.

Retención de Plomo

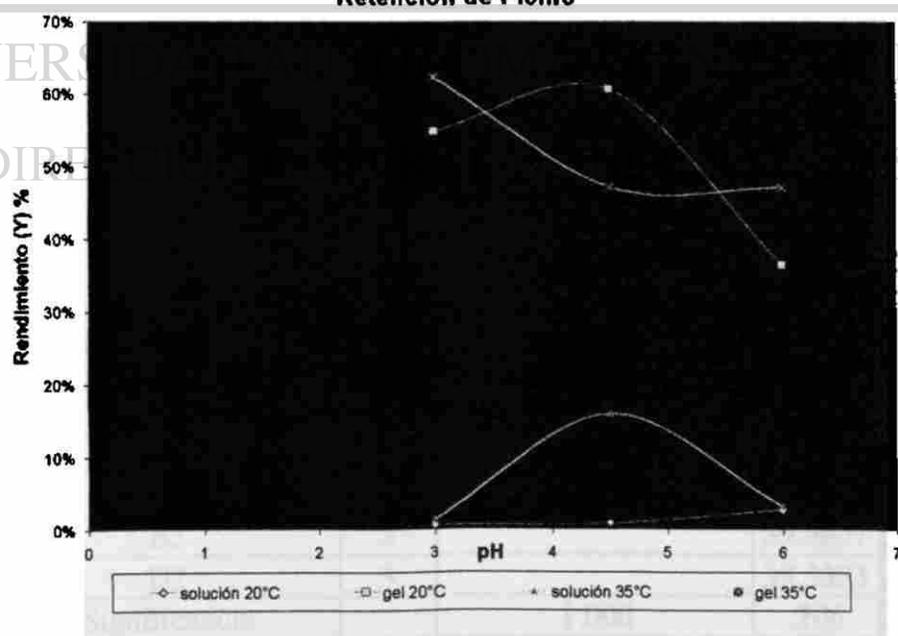


Figura 17.- Retención de Pb a diferentes pH's y Temperaturas de la solución del metal.

Tabla 21.- Formación del CPE y Retención de Sólidos (g) en lodos provenientes de Aguas Residuales

FORMULACION	g.l.	MEDIA	DESVIACION ESTANDAR	ERROR ESTANDAR
B3	3	19.9667	.9074	.5239
B2	3	39.0667	3.0567	1.7648
D3	3	31.9667	2.1127	1.2197
D2	3	39.3333	7.3037	4.2168
Total	12	32.5833	8.9311	2.5782

g.l.=Grados de libertad

g=gramos

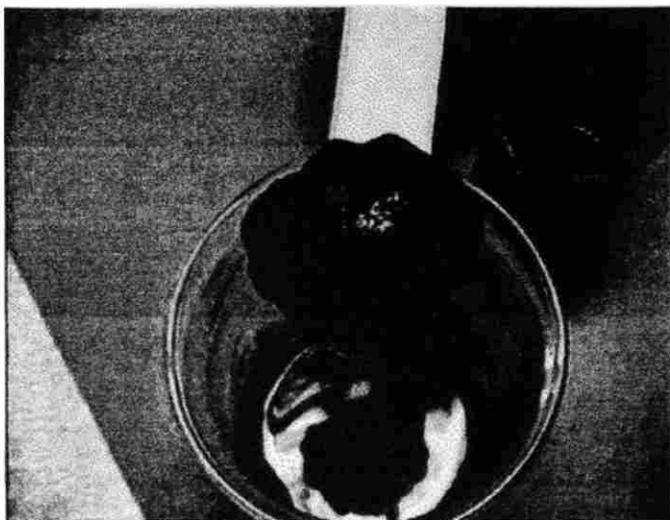
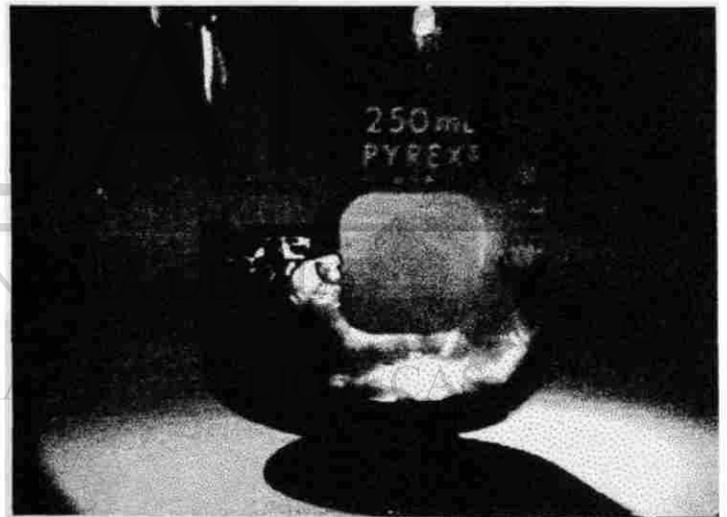
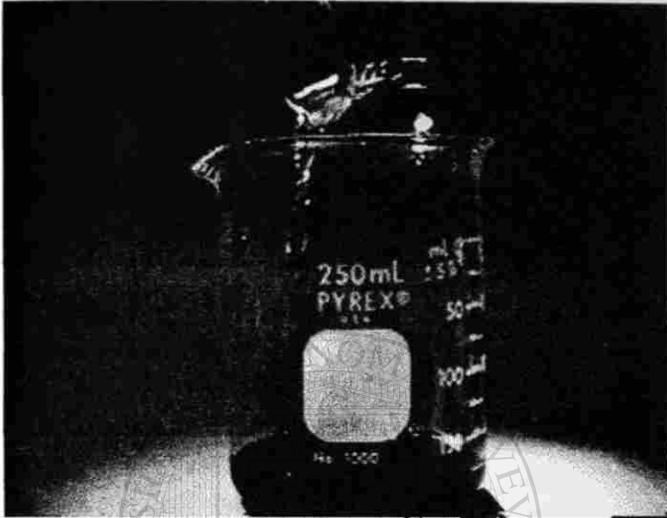
Tabla 22.-Prueba de Rangos Múltiples de Tukey para las Formulaciones Elaboradas en Lodos Provenientes de Aguas Residuales.

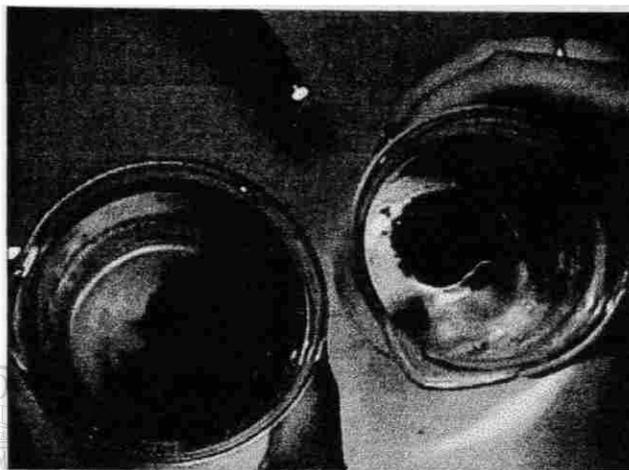
FORMULACION	g.l.	NIVELES DE HOMOGENEIDAD	
		1	2
B3	3	19.9667	
D3	3		31.9667
B2	3		39.0667
D2	3		39.3333
Significancia		1.000	.206

g.l.=Grados de libertad

rendimiento=gramos

Figura 18 a,b,c y d.- Lodos Provenientes de Plantas de Tratamiento de Aguas y su Tratamiento Ilustrativo con la Formulación de CPE's.



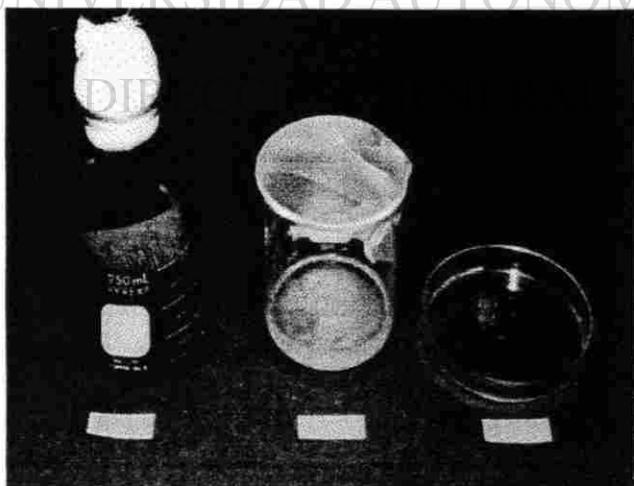


UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIP

DE BIBLIOTECAS



Biodegradación del CPE

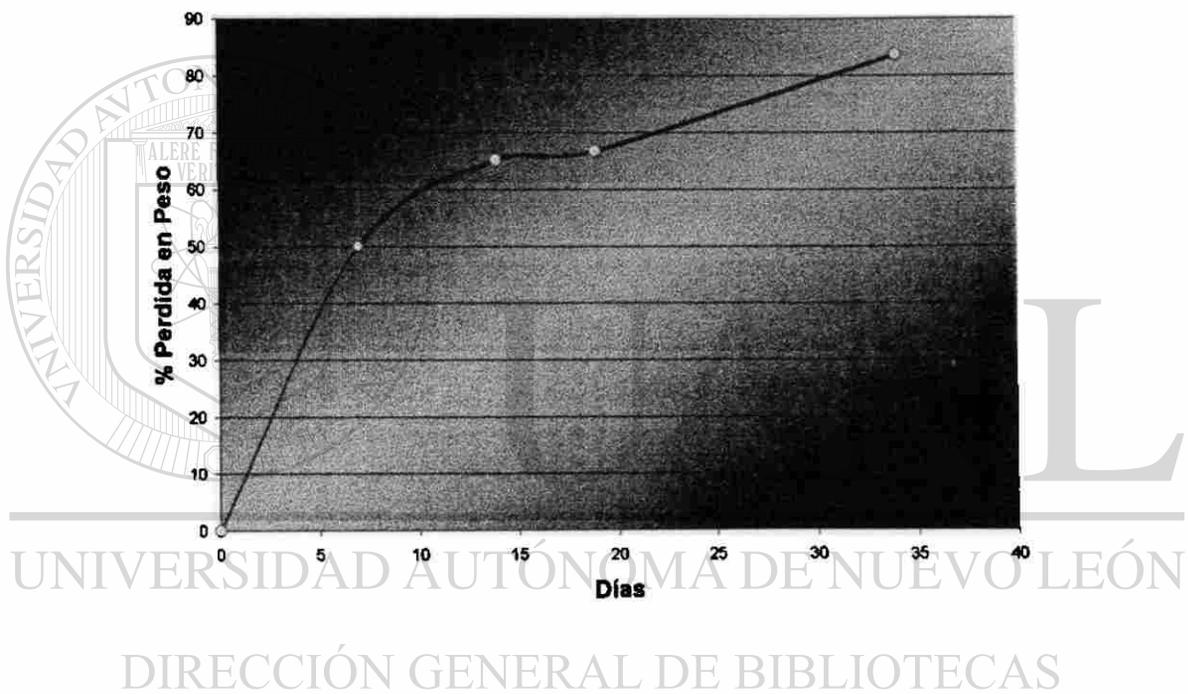


Figura 19.- Por ciento de Perdida en Peso del CPE con respecto al peso inicial, después de 34 días de exposición a nivel laboratorio utilizando, una cepa de *Serratia marscensens*.

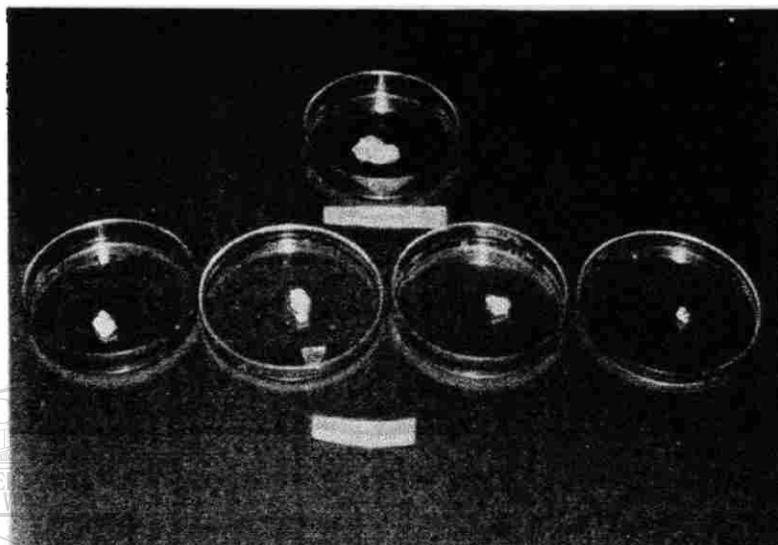


Figura 20 a.- Pérdida en Peso del CPE en las diferentes fechas de muestreo.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIOTECNICAS

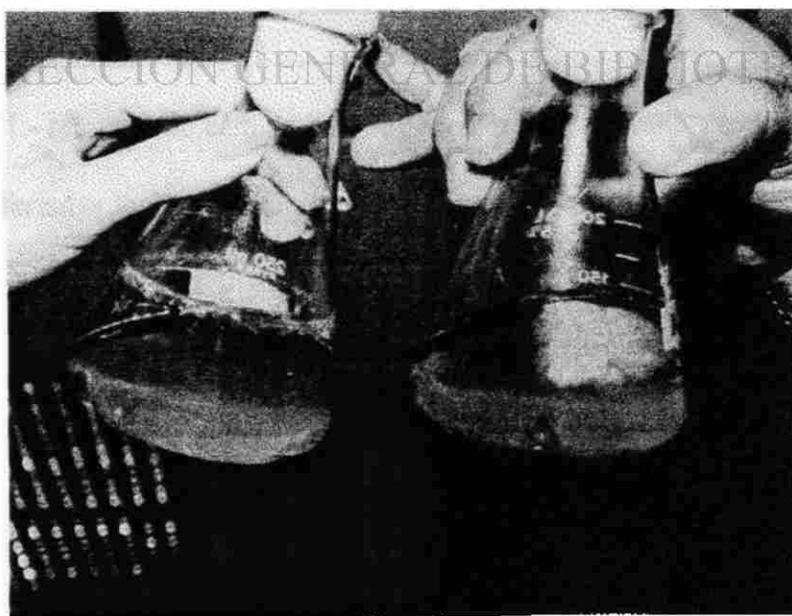


Figura 20b.- Pérdida en Peso del CPE después de 34 días.

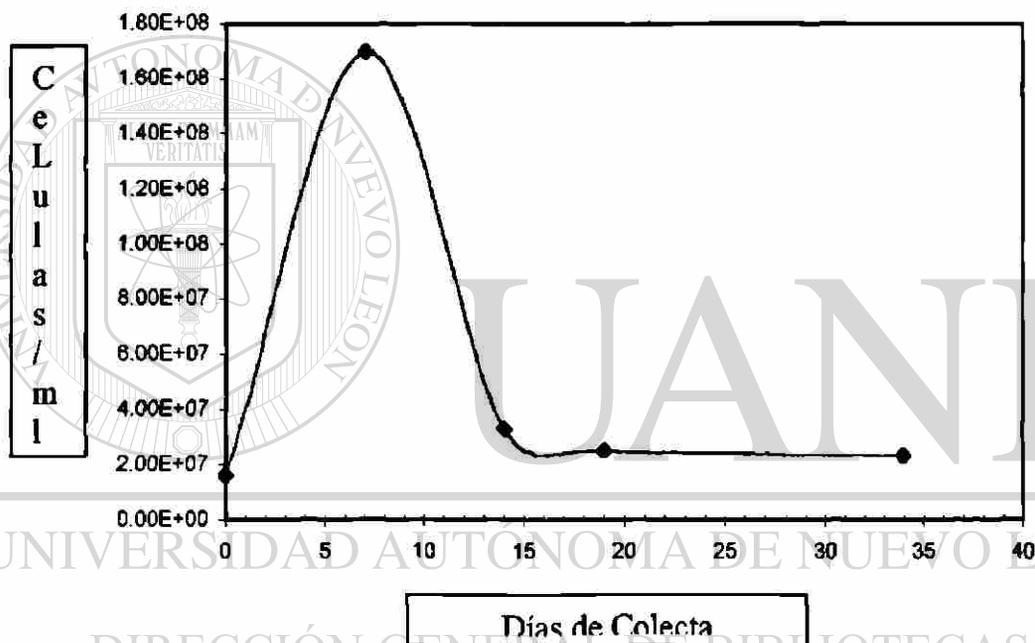


Figura 21.- Número de células / ml de *Serratia marscensens* presentes, en las diferentes fechas de colecta en el experimento a nivel laboratorio.

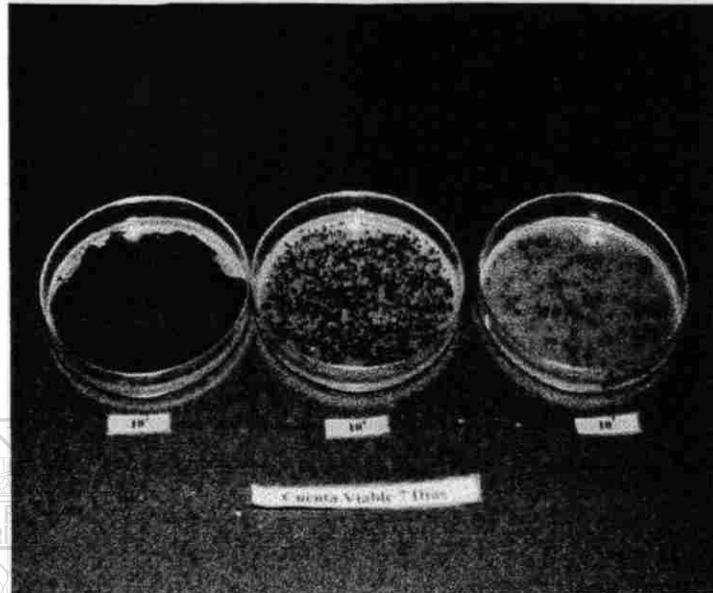


Figura22 a.- Crecimiento de *Serratia marscensens* a los 7 días de la prueba de Biodegradación.

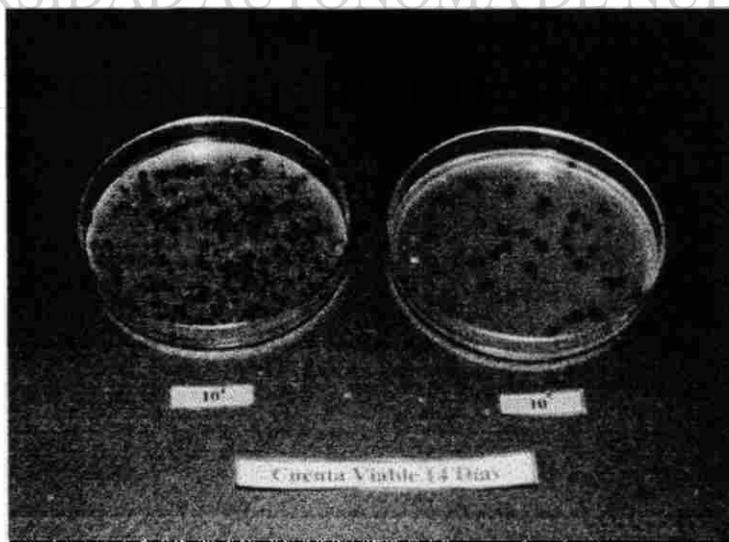


Figura 22 b.- Crecimiento de *Serratia marscensens* a los 14 días de la prueba de Biodegradación.

DISCUSIÓN

La obtención de Complejos Polielectrolitos (CPE's) a partir de polímeros naturales, ya sea polisacáridos, proteínas o ac. nucléicos, es de suma importancia, ya que en la actualidad existen CPE's de origen sintético, los cuales son utilizados en diversas áreas y con ello contribuyen a la contaminación del medio ambiente.

La contaminación es factor de preocupación hoy en día, por lo cual nos hemos visto en la necesidad de crear productos amigables con el medio ambiente, y con ello nos referimos a productos obtenidos de recursos naturales abundantes, renovables, y que a demás sean biodegradables; y que mas se podría pedir, si éste producto pudiera ayudarnos en la labor de remoción de metales pesados y clarificación de lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas?.

El objetivo del presente trabajo fue obtener un CPE a partir de pectina y quitosan, a su vez evaluar los rendimientos de este complejo optimizando el uso del polímero catiónico y probar las posibles aplicaciones del mismo en tecnología ambiental, por otro lado comprobar la biodegradabilidad de este complejo a nivel laboratorio.

La caracterización química de los polímeros fue de suma importancia para la correcta formación de el CPE, debido a que con el conocimiento de el pK y pH óptimo de los polímeros, pudimos fijar únicamente 4 formulaciones que nos aseguraban las condiciones idóneas para la formación del complejo, la razón misma radico en que se utilizaron los pH's a los cuales se encontraban el 50 y 100% de grupos ionizables en ambos polímeros.

Para poder llevar a cabo una mejor formulación del CPE, requerimos conocer la cantidad grupos ionizables disponibles por gramo de muestra, con lo cual obtuvimos bases para fijar una concentración inicial de cada polímero y posteriormente la optimización del polímero catiónico, el cual era posible reducir en concentración debido a que contaba con una mayor cantidad de grupos ionizables que la pectina.

La viscosidad intrínseca fue determinada para ambos polímeros, y para el quitosan dicho parámetro utilizado en la determinación del PM con la ayuda de la ecuación de Mark- Houink, el PM obtenido por viscosimetría fue comparado con el del proveedor el cual fue determinado por Resonancia Magnética Nuclear , el resultado calculado por viscosimetría fue el correcto y para cuestiones de costos el método fue muy barato y fácil de llevar a cabo.

La cantidad de grupos ionizables obtenida con el PM del quitosan y cálculos analíticos, fue comparada con la calculada por medio de una titulación potenciométrica, con esto se pudo corroborar ambos métodos.

Los resultados obtenidos al llevar a cabo la mezcla de los polímeros en forma de polielectrolitos, demuestra que es posible la obtención de CPE's utilizando pectina y quitosan, no obstante las formulaciones que mejores resultados en cuanto a rendimiento arrojaron fueron la formulación B y D, la formulación B fue seleccionada y la formulación D también, debido a que en la prueba de rangos múltiples de Tukey se presentaron 4 y 3 grupos de homogeneidad de acuerdo al rendimiento húmedo y seco respectivamente, quedando como el primero y segundo mejor grupo en la formación de CPE, así mismo presento mayor facilidad en su elaboración la formulación D que la B.

El CPE obtenido de la mezcla de pectina y quitosan no pudo ser utilizado para la elaboración de membranas como inicialmente se había contemplado, debido a que presentó la apariencia de un hidrogel compacto, dicho nombre no puede ser completamente aplicado a éste CPE hasta que su caracterización reológica no sea llevada a cabo.

Los CPE's obtenidos en las diversas formulaciones, presentaron una apariencia mas consistente y fuerte en algunos casos tales como: el de la formulación B y D.

De las formulaciones del grupo B donde se optimizó el polímero catiónico, la formulación que mejores resultados en cuanto a rendimiento presentó, fue la formulación B2, siendo en éste caso mejor por cuestiones de costo el uso de la formulación B2 y como segunda opción la formulación B3.

En las formulaciones obtenidas del grupo D, la formulación con mejores resultados fue la D3 y como segunda opción se presentaron la formulación D2 y D1. En éste caso fue seleccionada la formulación D3, tomando en cuenta la prueba de rango múltiple de Tukey donde se presentaron 2 grupos de homogeneidad para el rendimiento en peso húmedo al igual que para el rendimiento en peso seco, dicha formulación quedo como las de mejor rendimiento; por otro lado apariencia, cantidad de polímero utilizada y la facilidad en la elaboración de las soluciones de polielectrolitos jugaron un papel importante en la selección.

Se compararon de igual forma el grupo de la formulación B contra el grupo D y los resultados obtenidos del análisis de varianza, así como de la prueba de rango múltiple de Tukey presentaron a la formulación B1 y B2 en el grupo de mayor rendimiento de CPE obtenido, la decisión fue evaluada de igual manera de acuerdo a

otros parámetros ya mencionados con anterioridad como: facilidad en la preparación, apariencia y costo o polímero utilizado, de acuerdo a lo anterior se tomo en consideración la formulación D3 la cual fue la mejor de su grupo, es de bajo costo, mas fácil de elaborar y tiene un buen rendimiento en la formación de CPE.

Para las pruebas de estos CPE's en Tecnología ambiental, se procedió analizar las propiedades conocidas de cada uno de los polímeros.

Entre las propiedades del quitosan destaca la capacidad de adsorción, absorción y quelación para con metales pesados como: Pb, Hg, Zn, Ni, Cu, Cd, Ur, Ag, Co, etc; la capacidad de quelación de éste polímero es debido a que presentan la capacidad sus grupos amino e hidroxilo de actuar como donadores de electrones (Standford,1989; Onsoyen y Shaugrud, 1990).

Otra de las múltiples aplicaciones del quitosan se la debe a su propiedad catiónica dentro de las cuales se encuentra su excelente capacidad como floculante debido al gran número de grupos $-NH_3^+$ que pueden interactuar con coloides de carga negativa.

La pectina por otro lado debido a su propiedad aniónica acorta el tiempo de coagulación en sangre y es utilizada en casos de hemorragias.

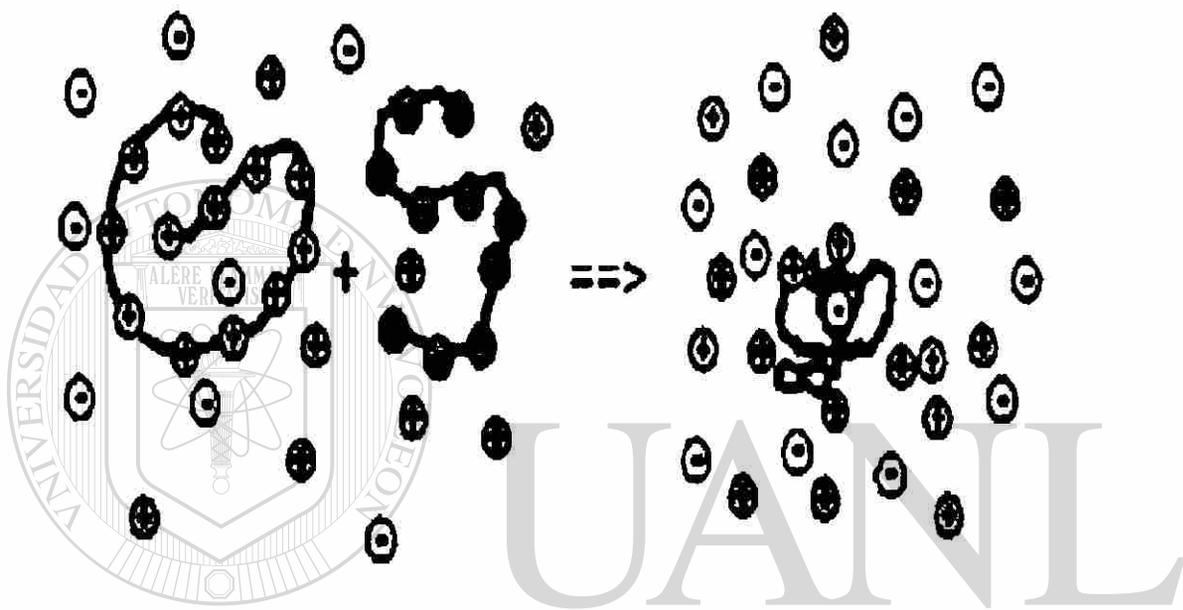
La capacidad de atrapar metales pesados por medio de un mecanismo de acomplejamiento, es posible debido a que la pectina se encuentra como un polielectrolito cargado negativamente y puede unirse a iones de metales pesados cargados positivamente. La afinidad que presenta este polielectrolitos es de mayor a menor proporción para los siguientes metales: Plomo (Pb) > Bario (Ba) > Cadmio

(Cd) > Stroncio (Sr), sigue decreciendo en su capacidad para atrapar iones alcalinotérreos y iones alcalinos.

En base a los datos anteriormente citados se procedió a llevar a cabo pruebas preliminares de la mezcla de estos dos polielectrolitos ambos con capacidad de atrapar metales, coagular y flocular.

Los experimentos realizados para medir retención de metales a diferentes pH's y temperaturas de la solución de metal con la formulación D3, presentaron una mejor remoción de Zn con un 86.9%, seguida por el Cu, Ni y Pb con 75%, 70.1% y 62.3% respectivamente, la temperatura a la cual se presentó la mejor remoción para estos metales fue a 35°C; el pH que al cual se presentó mejor remoción de Zn, Cu y Ni es a pH= 4.5, siendo únicamente adecuado para el Pb el pH 3.

La razón por la cual nosotros pensamos que la remoción de metales se está llevando a cabo tiene sus principios fundamentales en la química, la cual por el momento no ha sido probada, pero sugerimos que al interaccionar dos polielectrolitos que por principio tienden a unirse en lo que denominamos CPE, al estar presente un solución de un polielectrolito catiónico (Pb, Cu, Ni, Zn) la cual podría presentar preferencia por las interacciones iónicas (por carga opuesta) en este caso con la pectina la cual a su vez interactúa con el quitosán y los metales de su preferencia, por otro lado siendo el quitosán es un polielectrolito con capacidad de quelación hacia la pectina y capaz de donar electrones a los metales, así como de absorber hacia su red macromolecular cationes (metales) y mantener unidos a su superficie a metales, podríamos sugerir que esta estructura sería una red molecular compleja y revuelta.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
 Estructura de un Complejo Polielectrolito
 DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Para la pruebas de retención de sólidos en lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas, se probaron 4 formulaciones. A dichas formulaciones se les llevo a cabo la prueba de rango múltiple de Tukey, la cual indico 2 grupos de homogeneidad quedando las formulaciones D2, B2, y D3 dentro de las de mayor formación de CPE y remoción de sólidos, pero fue la formulación D2 y D3 la que dejaron menos partículas en la solución.

En cuanto a la claridad del agua proveniente de los lodos no se llevo a cabo un análisis de sólidos disueltos, por lo cual el análisis solo fue visual.

Para la prueba de biodegradabilidad a nivel laboratorio se selecciono una cepa de *Serratia marscensens* debido a que esta había sido utilizada con anterioridad para la degradación de pectina.

La perdida en peso del CPE fue de un 83.7% a los 34 días siendo esta provocada por el crecimiento del microorganismo inoculado, la acción mecánica a la cual fue expuesto dicho complejo al estar en agitación.

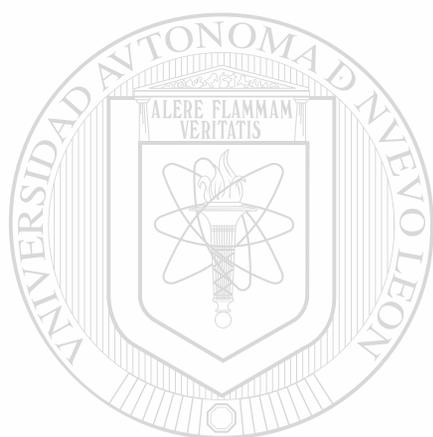
La perdida en peso es un factor muy variable para poder medir la biodegradación del CPE, esto debido a que al momento de llevar a cabo el secado del CPE el tiempo se tenía que ir acortando al quedar menos muestra y secarse mas rápidamente.

La biodegradación del CPE se observó al ir aumentando el número de células de el microorganismo, el cual únicamente contaba como fuente de carbono con el CPE , lo cual nos indicaba que el microorganismo estaba haciendo uso de esa fuente para crecer y durante dicho crecimiento produjo cierta coloración anaranjada adentro del CPE, el crecimiento del microorganismo se vio disminuido a los 14 días, sin ser este menor al inoculo inicial.

Debido a la disminución en la cuenta viable, se llevo a cabo una toma de muestra a los 19 días de iniciada la prueba de biodegradación, la cual fue en un tiempo menor del que había sido programado, no obstante el número de células se mantenía sin ser ya *Serratia marscensens*, ésta nueva cepa en crecimiento desplazó al microorganismo inicial manteniéndose con un promedio de $2.40 \cdot 10^7$ cel/ml

cantidad que se mantuvo hasta los 34 días, en los cuales ya no se pudo recuperar la muestra para determinar la pérdida en peso del CPE y fue suspendido el experimento.

Este microorganismo fue aislado y guardado para su análisis y caracterización posterior, debido a que es capaz de consumir el CPE elaborado a base de pectina y quitosan, la cual era su única fuente de carbono.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo podemos hacer las siguientes conclusiones.

- 1.- La caracterización química de los polímeros juega un papel importante para el establecimiento de las formulaciones y la obtención de los CPE's.
- 2.- Es posible obtener complejos polielectrolitos a partir de pectina y quitosan, y a su vez tengan buenos rendimientos del mismo.
- 3.- La determinación de los grupos ionizables por gramo de polímero son necesarios para la optimización del polímero catiónico en la elaboración de los CPE's.
- 4.- La selección del CPE debe ser llevada a cabo por métodos estadísticos y al mismo tiempo tomar en consideración la facilidad en la elaboración de la formulación, apariencia y costo de la misma.
- 5.- La aplicación de las soluciones de polielectrolitos de la formulación D3, en el orden adecuado a la solución de metales, es un factor importante para la formación del CPE y remoción de dichos metales.

6.- El pH y la Temperatura en la solución de metales juega un papel importante en la remoción de los mismo, al llevarse a cabo la formación del CPE D3.

7.- La aplicación de las soluciones de polielectrolitos de la formulación D2 o D3 sobre lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales, es un factor importante para la formación del CPE y remoción de los sólidos.

8.- Debido a que la muestra de CPE utilizada en la prueba de biodegradación no pudo ser esterilizada completamente, la muestra presentó el crecimiento de un microorganismo capaz de superar y desplazar al microorganismo inoculado.

9.- La pérdida en peso del CPE durante la prueba de biodegradación es atribuible a varios factores: el microorganismo inóculo, el microorganismo invasor y la acción mecánica por agitación.

10.- La biodegradación y solubilización del CPE es casi total a los 34 días de tratamiento a nivel laboratorio.

RECOMENDACIONES

Las conclusiones obtenidas de este trabajo nos permiten hacer las siguientes recomendaciones para continuar la investigación en relación a esta línea.

1.- Llevar a cabo la determinación del PM de la pectina debido a que podría ser de utilidad, al momento de establecer las propiedades del CPE.

2.- Caracterización reológica del CPE para poder establecer sus propiedades y capacidades, de igual manera el mejoramiento de las mismas.

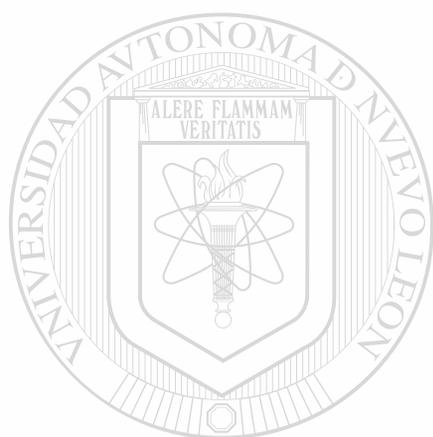
3.- Caracterizar molecularmente el CPE utilizando la técnica de FTIR, para observar las interacciones y las proporciones de estas.

4.- Estudiar mas profunda y detalladamente la capacidad de los CPE de remover metales de manera independiente y mezclas de los mismos, de igual manera su aplicación en efluentes provenientes de plantas procesadoras de metal.

5.- Para remoción de sólidos en lodos provenientes de aguas residuales medir la cantidad de sólidos totales inicial y final, así como una mejor técnica de separación del CPE y filtrado del mismo.

6.- Probar la capacidad de remoción de sólidos de los CPE's a base de pectina-quitosan en áreas como la de fermentaciones y alimentos.

7.- Evaluar la biodegradación del CPE por la técnica de respirometría, para evitar la influencia de factores externos como acción mecánica etc.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

LITERATURA CITADA

Allan, G.G., L.C. Allman., R.E. Benainger., D.K. Ghosh., Y. Hirabayashi., A.N. Neogi y S. Neogi. 1984. Biomedical Applications of Chitin and Chitosan. pp:119-133.

Arévalo, N. K. 1996. "Elaboración de plásticos biodegradables a partir de polisacáridos y su estudio de biodegradación a nivel de laboratorio y campo". Tesis Doctoral. Esc. de Posgrado Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garza, N. L., México.

APHA-AWWA-WPCF.1992. Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales. Díaz de santos. Madrid.

Bassi, R., S.Prasher y B.K.Simpson. 2000. Removal of Selected Metal Ions from Aqueous Solutions Using Chitosan Flakes. Separation Science and Technology. 35: (4), 547-580.

Brown, T.L., LeMay, H.E. y B.E. Bursten.1998. Química La Ciencia Central. Capítulo 12. Materiales modernos. Ed. Prentice Hall. pp. 428.

Brown, T.L., LeMay, H.E. y B.E. Bursten.1998. Química La Ciencia Central. Capítulo 25. Química de la vida: química orgánica y biológica. Ed. Prentice Hall. pp. 956-966.

Dautzenberg, H.H. y N. Karibyants. 2001. Macromolecular Characterization of Polyelectrolytes. <http://www.mpikg-golm.mpg.de/kc/dautzenberg>.

Dragan, S., M. Cristea y B.C. Simionescu. 1996. Polyelectrolyte complexes. I. Synthesis and Characterization of Some Insoluble Polyanion-Polycation Complexes. *Journal of Polymers. Sci. Part A: Polymer Chemistry*. 34: (17) 3485-3494.

Domszy, J.G. y G. A.F. Roberts. 1985. Evaluation of Infrared Spectroscopic Techniques for Analyzing Chitosan. *Makromol. Chem.* 186:1671-1677.

Endress Hans-Ulrich. 1998. News from R+D Pectins in Preventive Nutrition and Therapy. "Vitafood Congress" (1-1997).

FAO.1996. World Shrimp Production in 1996. www.fao.org

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
 FAO.2000. World Citric Production in 2000/01. www.fao.org ®
 DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Whitaker, J.R.1994. Principles of Enzymology for the Food Sciences. Chapter 16. Pectic Encimes. Ed. Marcel Dekker, Inc. pp. 425-426.

Fessenden, R y J. Fessenden. 1983. Química Orgánica: Capítulo 9. Alquenos y alquinos. Ed. Iberoamericana. pp.436-441.

Fogarty, W.M. y O.P. Ward. 1972. Pectin Substances and Pectinolytic Enzymes. *Process Biochemistry*. 7(8)13-17.

Fukuda, H. y Y. Kikuchi. 1977. Polyelectrolyte Complex of Sodium Dextran Sulfate with Chitosan, 2*. Makromol. Chem. 178:2895-2899.

Hennen, W.J. 1996. Chitosan: A Brief History. Ed. Woodland Publishing Inc. pp 3-15.

INEGI. 2001. Volumen Acumulado de la Captura Pesquera en peso vivo por destino y principales especies. www.inegi.gob.mx

Izumrudov, V.A., I.Y. Galaev y B.Mattiasson. 1999. Polycomplexes-potencial for bioseparation. Bioseparation. 7:207-220.

Kikuchi, Y. y H. Fukuda. 1974. Polyelectrolyte Complex of Sodium Dextran Sulfate with Chitosan. Makromolekulare Chemie. 175: 3593-3596.

Kikuchi, Y., y. Kochi Y Y. Onishi. 1976. Polyelectrolyte Complex of Sodium Dextran Sulfate with Dextran Containing Diethylaminoethyl Group. Makromol. Chem. 177:2563-2566.

Knorr, D. 1991. Recovery and Utilization of Chitin and Chitosan in Food Processing Waste management. Food Technology. Pp. 114-122.

Lasko, C.L. y M.P.Hurts.1999. An Investigation into the Use of Chitosan for the Removal of Soluble Silver from Industrial Wastewater. Environ. Sci.Technol.33:3622-3626.

Lehninger, A.L. 1991.Bioquímica Las Bases Moleculares de la Estructura y Función: Capitulo X. Azúcares, polisacáridos de reserva y paredes celulares. Ediciones Omega. pp. 270-274.

Lehninger, A.L. 1991.Bioquímica: Las Bases Moleculares de la Estructura y Función. Capitulo 37. El origen de la vida. Ediciones Omega. pp. 1060-1061.

Macossay,J. 1995. Síntesis y Caracterización de Derivados de Quitosan Solubles en Agua. Tesis Doctoral. Louisianan State University.

Maddever, W.J. y Chapman, G.M. 1989. Modified Starch Base Biodegradable Plastics. ANTEC 89. Pp.1351.

Mandel, M. 1990. Diccionario de Ciencias Químicas. Polyelectrolytes. pp.788-789.

Mathur, K.N. y C. K. Narang. 1990. Chitin and Chitosan, Versatile Polysaccharides from Marine Animals. Journal of Chemical Education. 67(11): 938-942.

Mitani, T. y H.Ishii.1997. Syntesys of chitosan-amino acid and chitosan-peptide conjugates and their use in heavy metal uptake. Chitin Handbook, Muzarelli, R.A. Y M.G.Peter, eds., European Chitin Society. pp 77-83.

Monroy, J., R. Moreno., R. Pedroza., F. Pietrin., E.Aguilar y M. Castrezana. 1990. Obtención de Pectinas. El Aprovechamiento de Subproductos Agroindustriales. CONACYT. 12: (168) 37-39.

Monteiro Jr, O. A. y C. Airoidi. 1998. Some Thermodynamic Data on Koper-Chitin and Copper-Chitosan Biopolymer Interactions. Journal of Colloid and Interface Science 212: 212-219.

Muzzarelli, R.A. 1983. Chitin and Its Derivatives: New Trends of Applied Reseach. Carbohydrate Polymers. 3:53-75.

Nakajima, A. y K. Shinoda. 1976. Complex Formation Between Oppositely Charged Polysaccharides. Journal of Colloid and Interface Science. 55(1) :126-132.

Nakajima, A. y K. Shinoda. 1977. Permeation Properties of Glycol Chitosan-Mucopolysaccharides. Journal of Applied Polymer Science. 21:1249-1255.

Nicol, S. 1991. Life after death for empty shells. New Scientist. 9 February. Pp 46-48.

Onsoyen, E. y O.Skaugrud. 1990. Metal Recovery Using Chitosan. Journal of Chemical Technology and biotechnology. 49:395-404.

Park, G.I., H.S. Park y S.I.Woo.1999. Influence of pH the Adsorption of Uranium Ions by Oxidized Activated Carbon and Chitosan. Separation Science and Technology.34(5):833-854.

Sandford. P. A. 1989. Chitosan: Advances in Chitin and chitosan. Comercial Uses and Potencial Applications. Elsevier, New York. Pp. 51-67

Savant. V.D. y J.A. Torres. 2000. Chitosan-Based Coagulating Agents for Treatment of Cheddar Cheese Whey. Department of Food Science and Technology.

Singh, D.K. y A.R.Ray.2000.Biomedical Applications of Chitin, Chitosan, and Their Derivatives. Macromol.Chem. Phys. 40(1).69-83.

Smid, J. y Fish, D. 1990. Diccionario de Ciencias Químicas. Polyelectrolytes Complexes. pp.785-788.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Srinivasan, R. y R. Kamalam.1982. Polyelectrolyte Complexes of Glycol Chitosan with Some Polysaccharides. I. Mixing Ratio and Dielectric Properties. Biopolymers. 21:251-263.

Srinivasan, R. y R. Kamalam.1982. Polyelectrolyte Complexes of Glycol Chitosan with Some Polysaccharides. II.Electrical Conductivity. Biopolymers. 21:264-275.

The World Bank y Secretaría de Desarrollo Social. 1994. Reporte de evaluación ambiental en México del sector de residuos sólidos, segundo proyecto de residuos

sólidos. ABC Estudios y Proyectos S.A. de C.V. Subsidiaria de Jones and Neuse, Inc. pp. 5.

Tan, S., Y. Wang., C. Peng y Yurong Tang. 1999. Synthesis and Adsorption Properties for Metal Ions of Crosslinked Chitosan Acetate Cross Ethers. *Journal of Applied Polymer Science*.71:2069-2074.

Towle, G.A. y O.Christensen.1980.Pectin. Chapter IX. Pp. 429-449.

Volesky, B y Z.R. Holan. 1990. Biosorption of Heavy Metals. *Biotechnol. Prog.* 11:235-250.

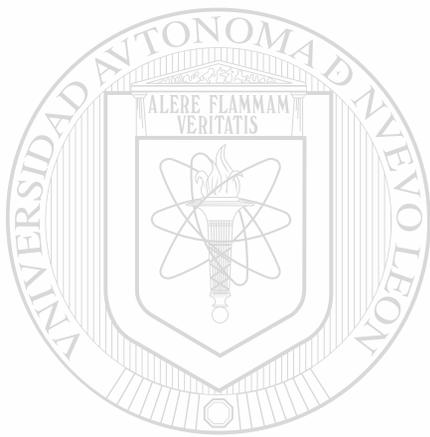
Walter, R.H.1991. *The Chemistry and Technology of Pectin*. Academic Press. San Diego N.Y. pp. 94-257.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Wan, W.S. y K.H. Liang, 1999. Adsorption of Gold Ions onto Chitosan and N-Carboxymethyl Chitosan: Equilibrium Studies. *Industrial engineering chemistry research*. 38: 1441-1414.

Wang, W., S. Bo., S.Li y W. Qin. 1991. Determination of the Mark-Houwink equation for chitosans with different degree of deacetylation. *Int. J. Biol. Macromol.*13:281-285.

Willet, J.L. 1995. Complex of Oppositely Charged Ionic Starches. *Starch/Stärke* 47:29-32.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



