

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**CARACTERIZACION DE QUITOSANOS
OBTENIDOS BAJO DIFERENTES CONDICIONES
DE DESACETILACION DE QUITINA DE
CAMARON**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
INGENIERA QUIMICA**

**P R E S E N T A:
DEISY PEREZ CARMONA**

ASESORA: DRA. SUSANA PATRICIA MIRANDA CASTRO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Por haberme permitido llegar a este día y realizar uno de mis sueños más importantes en compañía de mi familia, y por permitirme también, dar este regalo a los dos ángeles que me ha prestado durante mi vida: mis padres.

A mis padres

Por el apoyo incondicional que siempre me brindaron durante este camino, por creer en mí y por alentarme a seguir adelante en todos los proyectos de mi vida. Simplemente por ser ellos, por ser como son y por todo lo que me han dado, gracias, los tengo muy presentes a cada instante, en mi mente, pero sobretodo, en mi corazón.

A mis hermanas

Porque siempre han sido uno de mis motivos más grandes para salir adelante, para seguir, y sobre todo para mostrarles que mientras uno lo quiere, se puede. Quiero decirles, que yo creo en todas y cada una de ustedes, Kenia, Tania, Diana y Luz, saben que mi amor y mi apoyo son y serán siempre incondicionales.

A Daniel

Quien siempre creyó en mí y nunca me dejó caer, aún en los momentos más difíciles. Porque siempre estuvo ahí para darme la mano o prestarme su hombro y decirme que él sería el primero en aplaudirme este logro, por todo eso y porque durante todo este tiempo, ha sido un angelito más que dios me ha prestado, quiero decirte gracias, muchas gracias mi niño, te amo.

A la Dra. Paty

Por toda la paciencia y el tiempo dedicado, así como por haber depositado en mí la confianza para realizar este trabajo. Aprendí mucho sobre el tema de mi tesis durante todo este tiempo, pero lo que más me llevo es su ejemplo como profesionalista dedicada que es, y esa enorme calidad humana que logré ver en usted. Gracias doctora.

A mis amigas y amigos

A mis queridísimas amigas, muchas gracias por hacer de la universidad la etapa más bonita e inolvidable de mi vida, me llevo muchos recuerdos muy bonitos, pero sobre todo, muchas amistades valiosas que sé, perdurarán por muchísimo tiempo más. Aime, Bety, Gina, Maribel, Nancy y Paty, ustedes saben que ocupan un lugar muy especial en mi corazón. Blanca, Darney, Eva y Lety, porque sin ustedes simplemente no hubiera sido lo mismo, especialmente a Darney que me estuvo ayudando durante todo este tiempo, tu sabes lo mucho que hiciste por mí. A todos mis amigos de la banda alterna, al coach Olaf, con quien entrené y gané todas y cada una de las quemas jugadas, y a Jorge Cedillo, que ha sido un gran amigo, como pocos lo saben ser.

A la UNAM

Porque gracias a ella pude tener acceso al mejor nivel de educación superior en Latinoamérica. Es un orgullo ser egresada de la máxima casa de estudios y en agradecimiento haré mi mejor esfuerzo por seguir manteniendo su nombre de muy en alto.

“Por mi raza hablará el espíritu”

INDICE GENERAL.

INTRODUCCION.	5
ANTECEDENTES.	6
GENERALIDADES DE LA QUITINA.	6
ESTRUCTURA QUIMICA.	7
PRINCIPIOS DE OBTENCION DE LA QUITINA.	8
METODOLOGÍAS PARA LA OBTENCIÓN DE QUITOSÁN A PARTIR DE QUITINA.	9
DESACETILACION.	10
OBTENCION DEL GRADO DE DESACETILACION	10
Titulación potenciométrica.	10
Espectrofotometría.	11
PESO MOLECULAR.	12
CARACTERIZACION DEL PESO MOLECULAR.	12
viscosimetría intrínseca.	13
light scattering.(dispersión de luz).	17
cromatografía de exclusión.	17
factor de corrección de la polidispersidad.	18
OBJETIVOS.	19
METODOLOGIA EXPERIMENTAL.	20
CUADRO METODOLOGICO	
OBJETIVO 1.	21
ACTIVIDAD PRELIMINAR 1.	21
ACTIVIDAD PRELIMINAR 2.	21
OBJETIVO 2.	24
ACTIVIDAD PRELIMINAR 1.	24
OBJETIVO 3.	27
ACTIVIDAD PRELIMINAR 1.	27
ACTIVIDAD PRELIMINAR 2.	
RESULTADOS Y DISCUSION.	28

OBJETIVO 1.	28
ACTIVIDAD PRELIMINAR 1.	28
ACTIVIDAD PRELIMINAR 2.	29
OBJETIVO 2.	31
ACTIVIDAD PRELIMINAR 1.	31
OBJETIVO 3.	32
ACTIVIDAD PRELIMINAR 1.	32
ACTIVIDAD PRELIMINAR 2.	35
CONCLUSIONES.	37
BIBLIOGRAFIA.	39
ANEXOS.	43

INDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Estructura química de la quitina.	7
Figura 2. Estructura química del quitosán.	8
Figura 3. Curva de titulación con el método de Broussignac	11
Figura 4. Evaluación de la viscosidad intrínseca para una solución . de una poli(acrilamida) catiónica en una solución acuosa de NaCl 1 mol/L a 25 °C.	15
Figura 5. Dependencia de la viscosidad reducida en función de la concentración de polímero para soluciones acuosas de Na-carboximetilcelulosa a diferentes fuerzas iónicas: (1) no NaCl, (2) 2.5×10^{-4} mol/L NaCl, (3) 5×10^{-3} mol/L NaCl, (4) 5×10^{-2} mol/L NaCl.	16
Figura 6. Titulación potenciométrica.	22
Figura 7. Gráfico Volumen NaOH (ml) vs pH..	23
Figura 8. Tubo Ostwald.	25
Figura 9. Montaje Experimental.	25
Figura 10. Ejemplo de Experimento.	26
Figura 11. Viscosidad específica reducida vs concentración de quitosán.	27

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones de los diferentes tratamientos. Sistema Homogéneo: sistema cerrado, ebullición con reflujo. Sistema heterogéneo: sistema abierto, ebullición sin reflujo.	21
Tabla 2. Rendimiento de Obtención.	28
Tabla 3. Solubilidades promedio de los diferentes sistemas.	29

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. . Grado de desacetilación de la quitina en sistema homogéneo y heterogéneo de baja concentración.	30
Gráfico 2. Grado de desacetilación de quitinas tratadas en sistema homogéneo y heterogéneo de alta concentración.	31
Gráfico 3. Peso molecular en sistemas homogéneo y heterogéneo de alta concentración.	32
Gráfico 4. Valores de viscosidad promedio en los sistemas de alta concentración.	33
Gráfico 5. Valores obtenidos de viscosidad promedio (Cps) en los sistemas de baja concentración (12.5M).	34
Gráfico 6. Relación entre los diferentes parámetros estudiados para el sistema heterogéneo 25M.	35
Gráfico 7. Relación entre los diferentes parámetros estudiados para el sistema homogéneo 25M.	36

INTRODUCCION

El quitosán es un polisacárido natural obtenido por desacetilación de la quitina. La quitina fue aislada por primera vez en 1811, a partir de hongos superiores, por Braconnot, quién le asignó el nombre de fungina. En 1823, Odier aisló, a partir de escarabajos, un complejo insoluble al que denominó quitina, un vocablo que proviene del griego “chiton” y que significa cubierta o envoltura. En 1859, Rouget observó que tratando quitina con hidróxido de sodio concentrado obtenía un nuevo producto al que denominó “quitina modificada” y que era soluble en ácidos orgánicos. Pero no es hasta 1894, cuando Hoppe-Seyler sometió la quitina a reflujo a 180°C en hidróxido de potasio y observó que el producto que se formaba era bastante soluble en ácido acético y clorhídrico y lo denominó quitosán.

La reacción de desacetilación, o sea, la pérdida del grupo acetilo del grupo amida del carbono 2 da lugar a un grupo amino en esa posición que se produce cuando la quitina se somete a la acción de un medio alcalino muy concentrado y a temperaturas superiores a 60°C^[32].

En los últimos 20 años la quitina ha sido de gran interés para la investigación debido a que es una fuente renovable y no tóxica^[26]. Sin embargo, la funcionalidad y actividad del quitosán depende de sus características fisicoquímicas^[23].

El grado de desacetilación es un parámetro que influencia propiedades fisicoquímicas como el peso molecular y viscosidad, así como también propiedades biológicas como la biodegradación de las películas de quitosán, el efecto bactericida y las propiedades de curación de heridas^{[4] [18]}.

Por lo anterior, este trabajo está enfocado principalmente al estudio de la influencia del grado de desacetilación de la quitina de camarón en las propiedades fisicoquímicas del quitosán.

CAPITULO 1

ANTECEDENTES

Generalidades de la Quitina.

Al paso de los años gran variedad de procedimientos han sido desarrollados para la preparación de quitina y quitosán. Algunos de estos son la base de procesos químicos para la producción industrial de quitosán a partir de los desperdicios de caparazones de crustáceos. El cangrejo, camarón, langosta o langostino, son la fuente más grande de quitina (en general 20-30% sobre una base seca) al mismo tiempo de ser la única fuente quitinosa disponible en cantidades suficientes para abastecer una industria comercial de quitina/quitosán^[1].

Estimaciones de producciones anuales de desperdicios de caparazones de cangrejo, camarón, langosta, almejas y ostras, en base seca, son equivalentes a 1.44 millones de toneladas métricas^[1]. La provisión del mundo actual de desperdicios quitinosos podría posiblemente soportar una producción de 50 a 100 millones de libras^[1]. Las mayores fuentes de crustáceos en U.S.A. que son procesadas en quitina y quitosán son el cangrejo Dungeness (*Cancer magister*) y el camarón del pacífico (*Pandalus borealis*).

El desperdicio de los caparazones de los crustáceos está compuesto principalmente de proteína (30-40%), carbonato y fosfato de calcio (30-50%) y quitina (20-30%). Estas proporciones varían dependiendo de la especie y de la estación del año^[8]. Por eso, el método de preparación de quitosán puede variar y por lo tanto las características físicas y químicas de la quitina y quitosán difieren dependiendo de las especies y del método de extracción^[3]. Estudios^{[3][35]} con desperdicios de crustáceos han demostrado claramente que propiedades específicas de estos productos como peso molecular y el grado de desacetilación, varían dependiendo de diferentes condiciones de extracción así como el tipo y fuerza de las soluciones de ácido y álcali, temperatura de reacción y condiciones atmosféricas^[22].

La biotecnología propone procedimientos alternativos para la extracción de productos de alto valor agregado a partir de dichos desechos. Los desechos están constituidos de compuestos de valor comercial como quitina, proteínas, pigmentos y minerales. Estos compuestos se encuentran asociados, y por métodos tradicionales se utilizan altas

concentraciones de químicos para separarlos, lo cual ocasiona destrucción de proteínas y despolimerización de la quitina ^[27].

Estructura Química.

La quitina es el segundo polisacárido en abundancia en la naturaleza, después de la celulosa y es la mayor fuente de contaminación superficial en las áreas costeras ^[23].

Algunas de las características de la quitina son:

- Blancura
- Dureza
- Inelasticidad
- Insolubilidad

Sistemáticamente se conoce como 2-acetoamido-2-desoxi-D-glucosa, con uniones $\beta(1-4)$ ^[21].

Su estructura es similar a la celulosa, a diferencia de los grupos aminos en la posición de C-2 (ver figura 1), en la cual se unen unidades repetidas de cadenas principales.

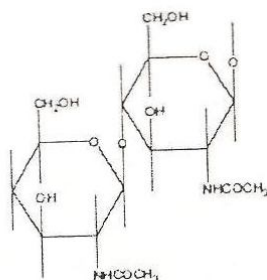


Figura 1. Estructura química de la quitina ^[34].

La quitina, como en el caso de la celulosa y otros biopolisacáridos, tiene alto peso molecular y poseen una cadena de enlaces de hidrógeno inter e intramoleculares. Esta estructura resulta con poca solubilidad en la mayoría de los solventes orgánicos, lo que la hace químicamente inerte para su derivatización ^[36]. La quitina puede formar 4 tipos diferentes de puentes de hidrógeno y estos son:

- Entre dos grupos de hidroxilo (HO-OH)
- Entre el hidrógeno del grupo amida y los oxígenos de los grupos hidroxilo (HO-NH)
- Entre los hidrógenos de los hidroxilo y el grupo carbonilo (C=O-OH)
- Entre el hidrógeno sobre el nitrógeno de la amida y el grupo carbonilo (C=O-NH)

La energía del enlace de C-O-C es más pequeña a comparación con el enlace C-C, por lo que es más probable que la descomposición de quitina comience con el corte del enlace C-O-C [34]. El grupo acetilo de la quitina puede presentar un impedimento estérico para la formación de puentes de hidrógeno, en los que intervenga el grupo hidroxilo vecino o el hidrógeno amínico, lo que resulta también en una desventaja relacionada a la compatibilidad y miscibilidad con otros polímeros[7].

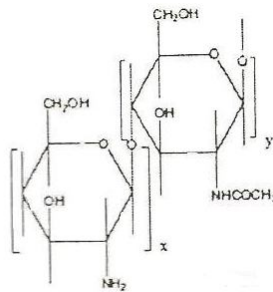


Figura 2. Estructura química del quitosán [34].

Principios de Obtención de Quitina.

La manufactura de diferentes quitosanos está basada en un procedimiento que consta de 3 pasos principales:

Desproteínización. La remoción de proteínas es convencionalmente acompañada por una extracción con álcali caliente, a cierta temperatura, durante un lapso determinado. El material se lava y se seca [32].

Desmineralización. La remoción de los minerales se lleva a cabo con ácido disuelto. Este proceso se lleva a cabo a diversas temperaturas, tiempos y ciclos. El material se lava y se seca [32].

Decoloración. Los exoesqueletos de crustáceos contienen pigmentos que pueden ser recuperados ya que poseen un valor comercial. La mayor parte de los pigmentos presentes son astacina, astaxantina, cantaxantina, luteína y el β-caroteno. Tras la desmineralización con tratamientos ácidos estos pigmentos pueden ser separados mediante extracciones con

etanol, éter, acetona y cloroformo. El empleo de ácido acético al 50% en caliente puede desmineralizar las cáscaras y extraer los carotenoides al mismo tiempo. Otra opción para realizar la decoloración sería emplear agentes blanqueadores como H_2O_2 al 0.5-3% o $NaClO$ al 0.32% ^[32].

Metodologías para la obtención de quitosán a partir de quitina.

Una de las diferencias más importantes entre la quitina y el quitosán, es su solubilidad, ya que como anteriormente se dijo, la estructura de la quitina no permite que existan enlaces de puente de hidrógeno, por lo que hace difícil esta propiedad, mientras que el quitosán es soluble en soluciones ácidas diluidas.

El quitosán es obtenido por la desacetilación parcial de la quitina y consiste en unidades de D-glucosamida y N-acetil-glucosamida. El parámetro más importante para la caracterización del quitosán es el grado de desacetilación, el cual refleja el balance entre los dos residuos monoméricos.

El grado de desacetilación influencia las propiedades físicas, químicas y biológicas. La mayoría de las muestras comerciales tienen un grado de desacetilación de 70-80%, siempre menor que el 90% ^[1].

DESACETILACIÓN.

Se puede realizar mediante procesos químicos o enzimáticos. El proceso químico se puede llevar a cabo de dos formas, homogénea y heterogénea ^[32]. Tenemos, por mencionar un ejemplo, que la desacetilación homogénea comienza con un pre tratamiento de hinchamiento y la eventual disolución completa de la quitina en frío ($-0^{\circ}C$) mediante la utilización de una relación de quitina $NaOH$ (p/p) de 1:10. Luego se somete a desacetilación a temperaturas cercanas a la del ambiente durante períodos largos de tiempo. Esto permite que la reacción no se localice en determinados lugares de la cadena y el ataque a los grupos amida sea mas uniforme. La desacetilación heterogénea, en algunos casos, se lleva a cabo en soluciones acuosas concentradas de bases como hidróxidos de sodio o de potasio, bajo condiciones severas ($100^{\circ}C$ - $160^{\circ}C$). Las condiciones en las que se lleva a cabo la desacetilación heterogénea pueden reducir la longitud de la cadena por este motivo es conveniente repetir varias veces el tratamiento alcalino por cortos periodos de tiempo y

aislando el producto en cada etapa. Para disminuir la pérdida de peso molecular del polímero es conveniente la ausencia de oxígeno o la presencia de un antioxidante^[32].

Otro método para obtener quitosán es la utilización de enzimas. La principal ventaja de este método respecto al químico es la obtención de un material uniforme en sus propiedades físicas y químicas, hecho muy apreciado para aplicaciones biomédicas. La quitina desacetilada es la enzima que cataliza la conversión de quitina a quitosán por la desacetilación de los residuos N-acetil-D-glucosamina. La limitación de este método es que la enzima no es muy efectiva en la desacetilación de quitina insoluble y por lo tanto es necesario un pretratamiento^[32].

Obtención del Grado de desacetilación

El quitosán es la forma desacetilada de la quitina, a partir de cáscaras de camarón y conchas de cangrejo. Se obtiene por métodos de desacetilación alcalina (NaOH, 40-50%), y la mayoría de los quitosanos comerciales tienen un grado de desacetilación mayor que el 70% y un peso molecular entre 1×10^5 y 1.2 millones de Da^[17]. Está compuesto de 2-amino-2-Deoxy- β -D-glucosa (ver figura 2), tiene 3 grupos funcionales. Las modificaciones químicas de estos grupos proveen diferentes aplicaciones^[34].

Titulación potenciométrica fue propuesta por Broussignac, durante el procedimiento el biopolímero es disuelto en un ácido conocido HCl, convirtiendo el quitosán en polielectrolito^[10] y la solución es titulada con NaOH, donde se obtiene como resultado una curva de titulación, (ver figura 3), con dos puntos de inflexión: el primer punto corresponde al exceso de HCl, mientras que el segundo corresponde al quitosán protonado. La diferencia entre los dos puntos de inflexión a lo largo de la abscisa, da como resultado la cantidad en moles de H^+ requeridos para la protonación de los grupos amino libres (desacetilado) y corresponde a la cantidad de D-GlcN en la solución titulada. Asumiendo que el resto de la muestra es D-GlcNac, el valor del grado de desacetilación puede ser obtenido.

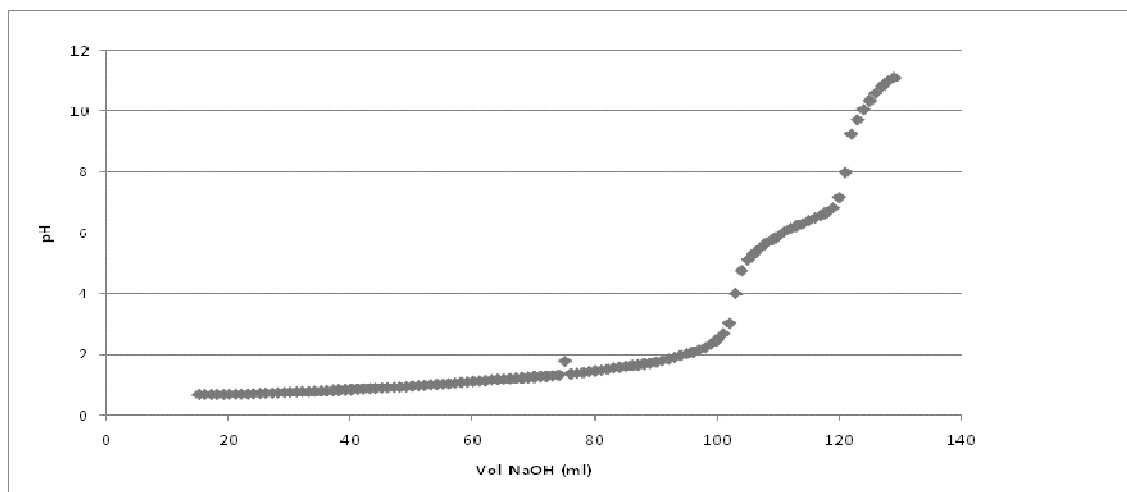
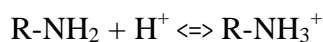


Figura 3. Curva de titulación con el método de Broussignac ^[10].

La reacción de equilibrio que describe el estado ionizante del quitosán como resultado de la protonación de los grupos amino en solución ácida es:



Mientras que la constante de disociación del quitosán según Wang ^[33] es definida como:

$$K_a = \frac{[\text{R-NH}_2][\text{H}^+]}{[\text{R-NH}_3^+]}$$

La desventaja de utilizar el método de titulación potenciométrica, implica que la muestra del quitosán tiene que ser purificada y secada previamente para obtener un resultado preciso. Añadiendo los posibles errores que se pueden cometer durante la determinación como: el peso de la muestra y errores causados por la precipitación del polímero, estos últimos reducen la concentración de la solución causando un error en la función lineal ^[1].

Espectrofotometría. Se refiere a la medida de cantidades relativas de luz absorbida por una muestra, en función de la longitud de onda.

Cada componente de la solución tiene su patrón de absorción de luz característico. Comparando la longitud de onda y la intensidad del máximo de absorción de luz de una muestra contra soluciones estándar, es posible determinar la identidad y la concentración de componentes disueltos en la muestra (solución incógnita).

Las ventajas de la espectrofotometría sobre otros métodos analíticos de laboratorio son varias: es rápida, precisa, versátil, fácil de usar y eficiente en costo. Los espectrofotómetros se han mejorado en precisión y versatilidad en los últimos años con los avances de tecnología, y hoy se consideran indispensables en un laboratorio de química analítica.

La espectrofotometría se usa para diversas aplicaciones, como:

- análisis cuantitativo y cualitativo de soluciones desconocidas en un laboratorio de investigación.
- estandarización de colores de diversos materiales, como plásticos y pinturas.
- detección de niveles de contaminación en aire y agua.
- y determinación de trazas de impurezas en alimentos y en reactivos.

Un espectrómetro típico posee cuatro componentes básicos: una fuente de radiación que tiene intensidad constante en el rango de longitud de onda que cubre (usualmente es lámpara de tungsteno para luz visible, y deuterio para ultravioleta), un compartimiento para la muestra, un monocromador que separa la banda de longitud de onda deseada del resto del espectro y la dispersa al compartimiento de la muestra, y un fotodetector, que mide cuantitativamente la radiación que pasa por la muestra.

En general, los espectrómetros miden en % de transmitancia (T) y absorbancia (A). El porcentaje de transmitancia se refiere a la cantidad de radiación que pasa a través de la muestra y alcanza el detector. Una solución límpida, no absorbente, mostrará una lectura de 100% de transmitancia en un espectrofotómetro calibrado. Las unidades de absorbancia van de 0 a 2. La absorbancia se relaciona con la transmitancia como:

$$A = -\log 1/T, \text{ (logaritmo decimal).}$$

PESO MOLECULAR.

El peso molecular es otra de las características que identifica los diferentes tipos de quitosanos, ya que pueden existir con diversos valores, comercialmente existen en un rango de 1×10^5 y 1.2×10^5 Da ^[6].

La determinación del peso molecular por medio de viscosidad intrínseca, es un método relativamente rápido en el cual la viscosidad intrínseca de una solución de polímero está relacionada al peso molecular de acuerdo a la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada^[7].

Caracterización del peso molecular.

Para poder evaluar el peso molecular de cadenas poliméricas, pueden ser usados varios métodos: se usan ampliamente las técnicas de viscosimetría y cromatografía por permeación de gel, las cuales son fáciles de realizar y no consumen mucho tiempo. Estas

técnicas están empíricamente relacionadas con el peso molecular, porque la medición depende del volumen hidrodinámico de la macromolécula, propiedades conformacionales e interacciones polímero-solvente. Como consecuencia, se requiere una curva de calibración. Por otro lado, el método de light scattering (LS) da valores absolutos de peso molecular y algunas veces los datos no son fáciles de interpretar, en presencia de agregación y/o asociación^[14].

Peso molecular medio viscosimétrico (viscosimetría intrínseca). La viscosidad es una de las propiedades más importantes de las soluciones poliméricas. La viscosidad depende de la estructura química del polímero, de las interacciones con el disolvente y del peso molecular. Normalmente, una molécula de alto peso molecular en un buen disolvente adquiere un gran volumen hidrodinámico y la viscosidad de la solución aumenta. En el caso de los polielectrolitos, el volumen hidrodinámico depende, no sólo del peso molecular, sino también del número y distribución de grupos iónicos en la cadena del polímero. Los grupos iónicos pueden causar repulsión entre las cadenas, lo cual da lugar a una expansión de la molécula y, en consecuencia, un incremento de la viscosidad de la solución^[6].

La viscosimetría de soluciones diluidas está relacionada con la medida de la habilidad intrínseca de un polímero para incrementar la viscosidad de un disolvente a una temperatura determinada y es útil para obtener información relacionada con el tamaño y la forma de las moléculas de polímero en solución y las interacciones polímero-disolvente. En el régimen diluido la viscosidad de una solución polimérica (para concentraciones de polímero muy bajas). Los siguientes términos son definidos en estos casos:

Viscosidad relativa

$$\eta_r = \eta / \eta_0 \quad (1)$$

donde η es la viscosidad de la solución de polímero y η_0 es la viscosidad del disolvente puro.

Viscosidad específica

$$\eta_{sp} = \eta_r - 1 = (\eta - \eta_o) / \eta_o \quad (2)$$

Viscosidad reducida

$$\eta_{red} = \eta_{sp} / c \quad (3)$$

donde c es la concentración de polímero. Ésta es una medida de la habilidad de un polímero para aumentar la viscosidad de un disolvente.

Viscosidad inherente

$$\eta_{inh} = \ln \eta_r / c \quad (4)$$

Aun en soluciones muy diluidas las moléculas de polímero son capaces de interacciones intermoleculares. Las dos contribuciones a la viscosidad reducida son el movimiento de las moléculas aisladas en el disolvente y la interacción entre las moléculas del polímero y la solución. Para eliminar las interacciones es necesario extrapolar a concentración cero para obtener las viscosidades inherente y reducida comúnmente conocidas como viscosidad intrínseca^[6].

$$[\eta] = (\eta_{red})_{c \rightarrow 0} = (\eta_{inh})_{c \rightarrow 0} \quad (5)$$

La viscosidad intrínseca tiene las unidades de masa/volumen y es una medida del tamaño de una molécula en solución. Es una medida de la habilidad de una molécula de polímero para aumentar la viscosidad de un disolvente en ausencia de interacciones intermoleculares. Las ecuaciones más comunes para evaluar la viscosidad intrínseca son las ecuaciones de Huggins y Kraemer, dadas por las ecuaciones (6) y (7), respectivamente. El procedimiento más usual para determinar la viscosidad intrínseca es determinar la viscosidad relativa para diferentes concentraciones de polímero y representar los datos utilizando las ecuaciones (6) y (7) y entonces calcular el valor a concentración cero. En la Figura 4 se muestra una gráfica típica de este tipo de datos^[6].

$$\eta_{sp}/c = [\eta]_H + k_H [\eta]_H^2 c \quad (6)$$

$$\ln \eta_r / c = [\eta]_k - k_k [\eta]_k^2 c \quad (7)$$

Las medidas de viscosidad relativa de soluciones diluidas de polímeros se pueden llevar a cabo en una variedad de maneras incluyendo viscosímetros capilares, donde se registra el tiempo requerido por los dos fluidos para fluir entre dos marcas en un capilar. Alternativamente, se pueden usar también viscosímetros de cilindros coaxiales^[6].

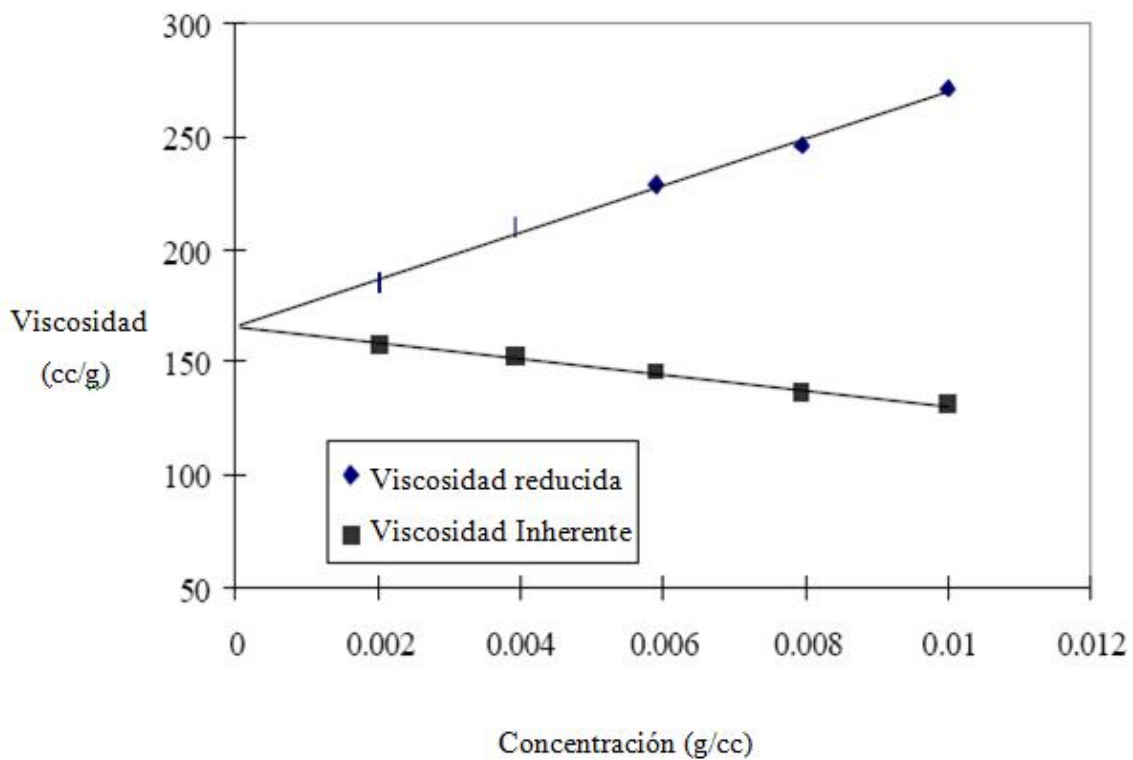


Figura 4. Evaluación de la viscosidad intrínseca para una solución de una poliacrilamida catiónica en una solución acuosa de NaCl 1 mol/L a 25 °C.

Las soluciones de polielectrolitos exhiben comportamientos particulares. Cuando se determina la viscosidad reducida de un polielectrolito en agua desionizada su valor aumenta abruptamente al disminuir la concentración del polielectrolito. Este efecto se hace más débil con la adición de sales. Sobre una concentración dada de sales, los polielectrolitos se

comportan de manera similar a los no-polelectrolitos (Figura 5). El incremento en viscosidad se observa solo a bajas concentraciones de polielectrolito; a altas concentraciones el comportamiento es similar al observado para soluciones de no-polelectrolitos^[6].

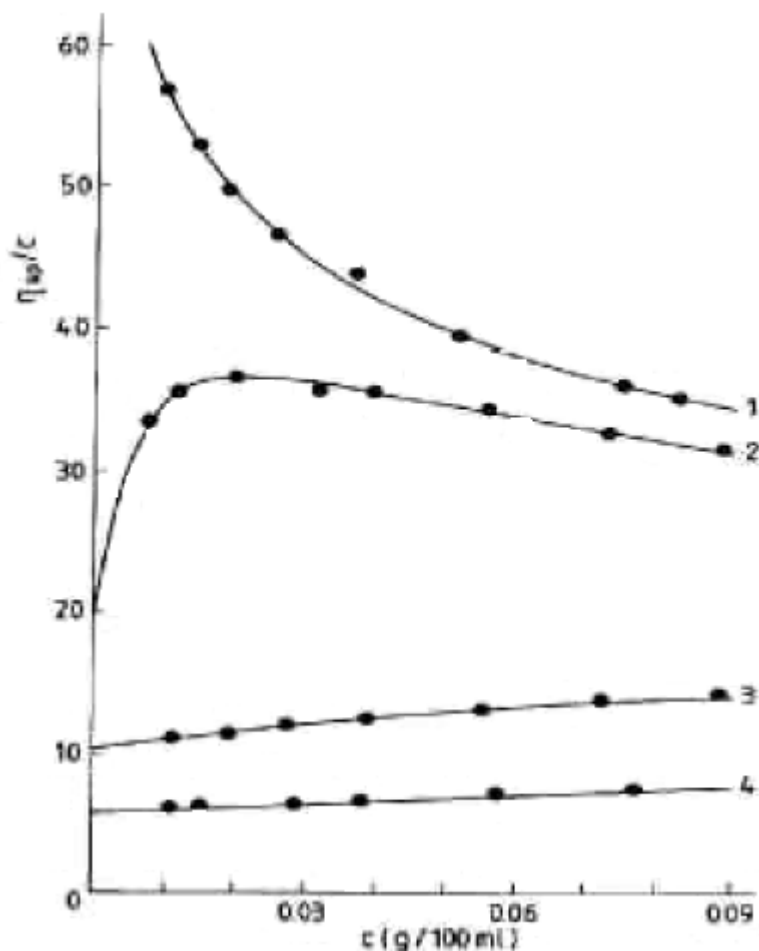


Figura 5. Dependencia de la viscosidad reducida en función de la concentración de polímero para soluciones acuosas de Na-carboximetilcelulosa a diferentes fuerzas iónicas: (1) no NaCl, (2) 2.5×10^{-4} mol/L NaCl, (3) 5×10^{-3} mol/L NaCl, (4) 5×10^{-2} mol/L NaCl.

Este comportamiento de los polielectrolitos se ha explicado tradicionalmente en términos de la extensión de cadena. Al disminuir la concentración del polielectrolito, aumenta el grado de ionización. Los contraiones de las polisales forman una atmósfera iónica alrededor de la macromolécula. En soluciones diluidas, la atmósfera iónica es más grande que el diámetro del ovillo molecular y los grupos cargados se repelen unos a otros, incrementando

la rigidez de la cadena y expandiendo el ovillo del polímero con un consecuente aumento en la viscosidad. La adición de sales de bajo peso molecular apantalla las cargas suprimiendo el efecto polielectrolito^[6].

La viscosidad reducida y la viscosidad intrínseca son ampliamente utilizadas solas o en conjunto con dispersión de luz para estudiar relaciones estructura-propiedad, los efectos del medio y la estabilidad de polímeros en solución. El peso molecular viscosimétrico se puede calcular utilizando la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (8) en la cual M_v es el peso molecular viscosimétrico promedio y K y a son constantes para un sistema dado polímero/disolvente/temperatura. Se puede calcular el peso molecular si se conocen los valores de K y a para un conjunto de condiciones particulares. Las constantes en la ecuación (8) se pueden determinar para establecer la dependencia entre la viscosidad intrínseca y el peso molecular promedio en peso (M_w) de muestras de calibración^[6].

$$[\eta] = K \overline{M}_v^a \quad (8)$$

Light scattering.(dispersión de Luz). Esta técnica permite determinar de forma directa el peso molecular promedio en peso, M_w , del polímero. Es una técnica rápida y no destructiva que nos proporciona medidas absolutas sin la necesidad de utilizar ningún material de referencia^[20]. A pesar de que la dispersión de luz ofrece información importante sobre el polímero y su interacción con el medio, ha sido poco utilizada con el quitosán ya que en ocasiones los resultados son de difícil interpretación, especialmente cuando existe agregación o asociación. En esta técnica, la intensidad de la luz dispersa en una solución de un polímero, en función de un ángulo de difracción y una concentración, es medida con ayuda de un fotómetro^[27].

Cromatografía de exclusión. En esta técnica, las moléculas son separadas de acuerdo a su tamaño. La separación toma lugar en columnas cromatográficas rellenas con geles rígidos porosos: los poros son al menos del mismo tamaño que las moléculas del polímero. Una muestra de una solución de polímero disuelto es introducida en un solvente gaseoso que fluye a través de las columnas y las moléculas del polímero se pueden difundir dentro de las estructuras de los poros internos del gel dependiendo del tamaño. Las moléculas más grandes pueden entrar solo en una pequeña fracción de la porción interna del gel, o son completamente excluidas: por lo tanto, estas duran menos tiempo dentro del

gel y fluyen más rápido a través de la columna. El comportamiento opuesto ocurre para moléculas de polímero más pequeñas ^[27].

Factor de corrección de la polidispersidad. La polidispersidad indica el grado de variación, o amplitud de una campana gaussiana que representa los pesos moleculares de un polímero. Es representada por la división del peso molecular promedio en masa, con respecto al peso molecular promedio en número: M_w/M_n ^[19].

Los polímeros a diferencia de los compuestos de bajo peso molecular, no tienen un peso molecular único, sino que poseen una distribución de pesos moleculares. Este hecho complica el estudio de la física de polímeros, la cual tiene que ser estadística. Por ello se utiliza el peso molecular promedio. Sin embargo el promedio de pesos moleculares puede representar o incluir pesos muy distintos ^[19].

La polidispersidad es muy diferente en un polímero obtenido por polimerización por radicales libres que uno obtenido por polimerización aniónica, o por polimerización catiónica ^[19].

La razón por la cual la polidispersidad en la polimerización por radicales libres es mayor, se debe al del crecimiento de las cadenas de polímero, determinado por los radicales libres, estos radicales cuya inestabilidad es alta y tienden a reaccionar rápidamente provocan alta ramificación de las cadenas y un crecimiento poco ordenado y terminación de cadenas con diferente grado de polimerización ^[19].

En cambio, la polimerización aniónica, debido al orden y la regularidad de la reacción, así como su cinética de reacción, produce una polidispersidad muy baja ^[19].

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar fisicoquímicamente a los quitosanos obtenidos bajo diferentes condiciones de desacetilación química de quitina proveniente de camarón.

Objetivos particulares

Objetivo 1.

Evaluar la desacetilación química de quitina de camarón, variando tiempo de desacetilación, temperatura y concentración de hidróxido en sistema homogéneo y heterogéneo, a través de titulación potenciométrica.

Objetivo 2.

Evaluar el peso molecular medio viscosimétrico de quitinas desacetiladas bajo diferentes condiciones de temperatura, tiempo y concentración de NaOH.

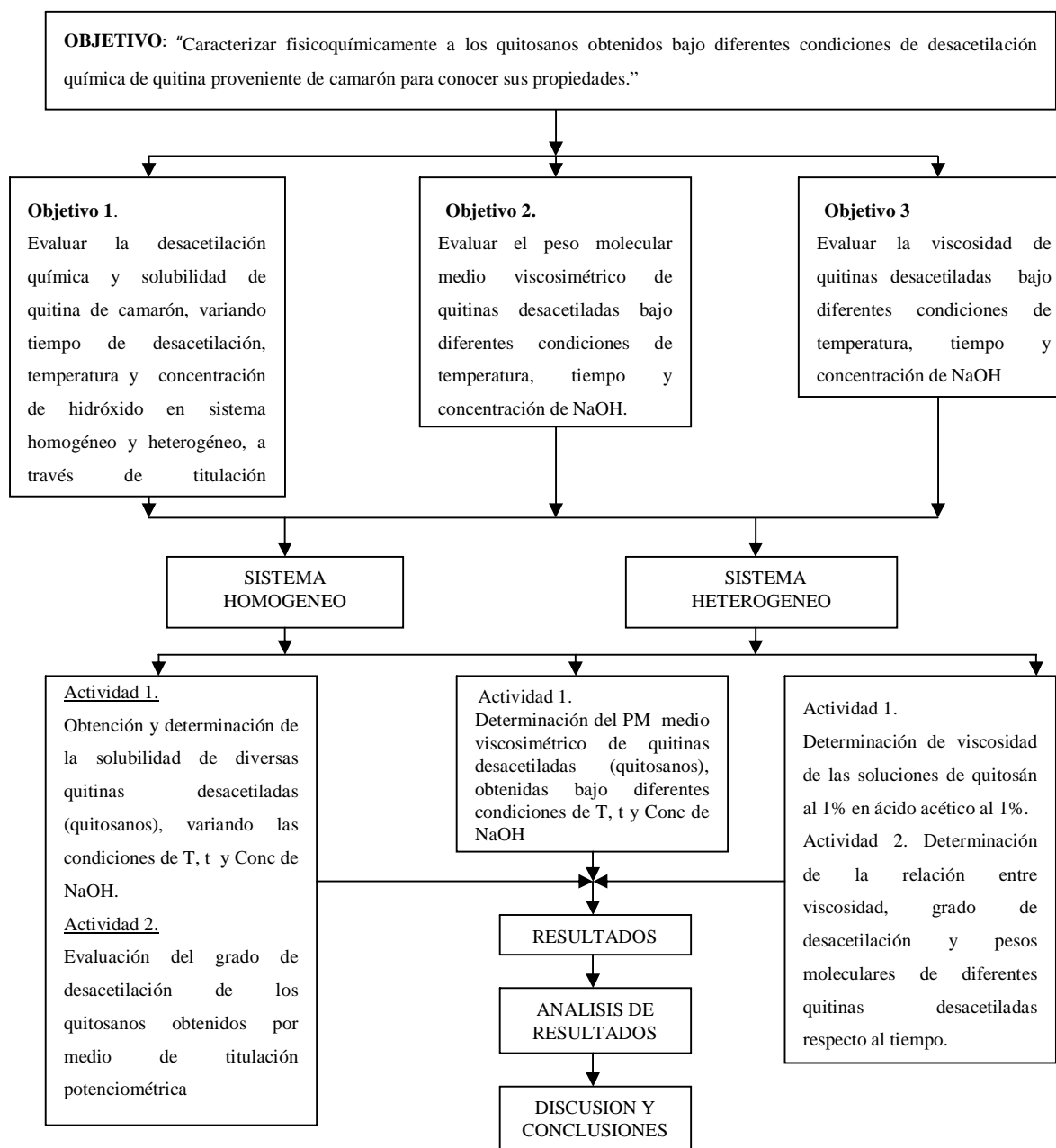
Objetivo 3

Evaluar la viscosidad de quitinas desacetiladas bajo diferentes condiciones de temperatura, tiempo y concentración de NaOH y relacionarlo con el peso molecular medio viscosimétrico y el grado de desacetilación.

CAPITULO II

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

CUADRO METODOLOGICO.



Objetivo 1

Actividad 1. Obtención de quitina.

Se obtuvo quitina de camarón a partir de exoesqueleto de camarón, bajo la técnica descrita en el registro de patente del laboratorio de Biotecnología de la FESC-UNAM^[27].

Actividad 2. Evaluación del porcentaje de desacetilación y solubilidad.

Desacetilación.

El quitosán es un biopolímero obtenido de la N-desacetilación de la quitina. Las propiedades de no toxicidad, biodegradabilidad y biocompatibilidad del quitosán lo proveen de un gran potencial para muchas aplicaciones. El grado de N-acetilación influye no solo las características fisicoquímicas, sino también, la biodegradabilidad y la actividad inmunológica del quitosán. Consecuentemente, la determinación del grado de N-desacetilación, ha sido el objetivo de muchas investigaciones^[3].

Las condiciones de desacetilación llevadas a cabo en este trabajo se resumen en la siguiente tabla 1.

	SISTEMA HOMOGENEO	SISTEMA HETEROGENEO
tiempo	30min, 1hr, 2hrs	30min, 1hr, 2hrs
concentración	12.5M, 25M	12.5M, 25M

Tabla 1. Condiciones de los diferentes tratamientos. Sistema Homogéneo: sistema cerrado, ebullición con reflujo. Sistema heterogéneo: sistema abierto, ebullición sin reflujo.

Se pesaron 25g de quitina en una balanza Ohaus y se sometieron a los diferentes tratamientos de desacetilación de acuerdo al cuadro de la tabla 1. Posteriormente cada una de las quitinas desacetiladas se lavaron con agua corriente hasta que el agua de lavado tuvo un pH de 7. Finalmente cada una de las muestras se secó en una estufa marca BG a 80°C.

Determinación de grado de desacetilación.

La titulación peachimétrica fue utilizada en esta experimentación, la cual es una titulación ácido-base de los grupos NH_3^+ de la muestra del polímero (quitosán) disuelta en un exceso de ácido. Utilizando un peachímetro se determinó el cambio de pH de la muestra a evaluar.

Se pesaron 0.30g de quitosán por duplicado de cada una de las muestras, previamente secado a 105°C, se colocaron en vasos de precipitados de 100mL y se agitaron hasta disolución por un lapso de 24hrs. Se calibró el peachimetro para asegurar una lectura confiable durante la experimentación. Se utilizó una bureta con la base (NaOH), y se colocó la muestra en la parte inferior, como lo muestra la figura 6.

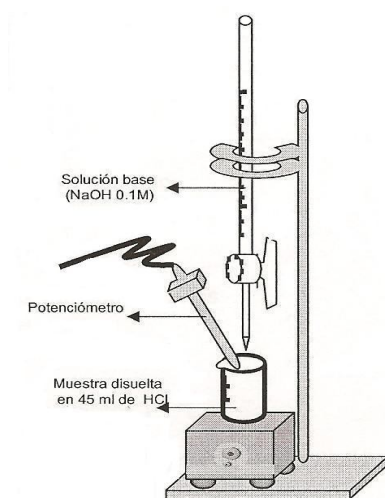


Figura 6. Titulación potenciométrica.

Se agregaron incrementos pequeños de base, se anotaron los valores de pH de cada volumen agregado, titulando hasta pH 11 de la muestra. Una vez obtenidos los datos de pH y volumen gastado, se graficaron los valores colocando los datos de volumen de base gastada en el eje de ordenadas. Con el gráfico pH vs Vol. NaOH se determinaron los puntos de equivalencia y se realizaron los cálculos necesarios para determinar el grado de desacetilación.

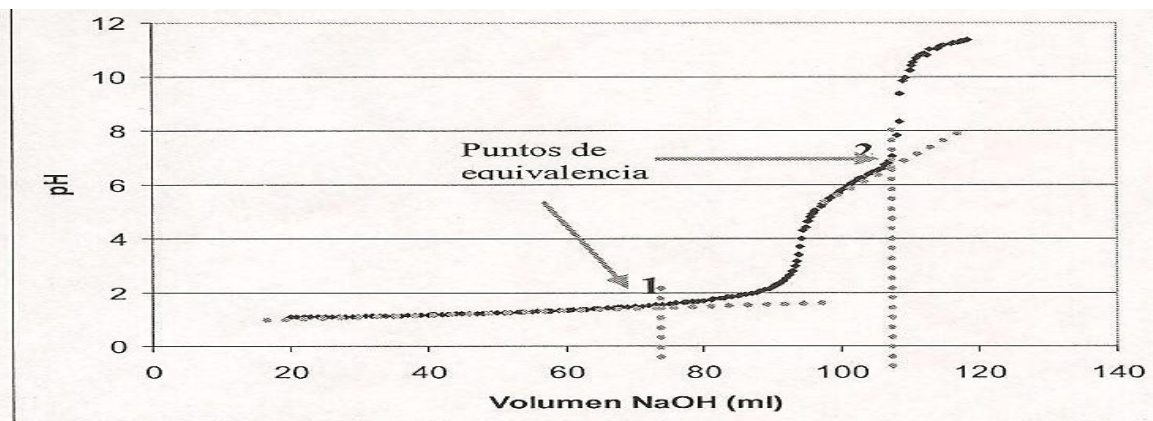


Figura 7. Gráfico Volumen NaOH (ml) vs pH

- Se calculó el volumen gastado.

$$\text{Vol prom(mL)} = (\text{Vol Equivalencia 2(mL)} - \text{Vol Equivalencia 1(mL)}) / 2$$

$$\text{Vol gastado (L)} = \text{Vol Promedio (mL)} / 1000$$

- Se calculó la masa en equivalentes.

$$\text{Meq} = m(\text{g}) / ([\text{NaOH}] * \text{Vgastado(L)})$$

Donde:

Meq=masa (equivalentes)

m= masa del quitosán (gr)

[NaOH]=concentración de hidróxido de sodio (N)

Vgastado = volumen final (L)

- Se calculó el grado de desacetilación.

$$\% \text{DA} = [203 / (\text{Meq} + 42)] * 100$$

Se llevó a cabo esta prueba con 3 repeticiones y se analizó la varianza con un $p \leq 0.05$.

Solubilidad.

La quitina es uno de los poliscáridos naturales más abundantes y disponibles a partir de los exoesqueletos de crustáceos e insectos. Es obtenida principalmente como un subproducto de la industria de comida de mar. La desacetilación de la quitina lleva directamente a la obtención del quitosán. Se han encontrado recientemente una gran variedad de aplicaciones para la quitina, el quitosán y sus derivados como materiales funcionales. Aun así, la falta de solubilidad de la quitina limita su uso práctico. Desde que el quitosán tiene un grupo amino

en unidades repetidas, es soluble en medio acuso ácido, pero inherentemente insoluble en agua. Una considerable cantidad de investigaciones han sido enfocadas a métodos para hacer soluble al quitosán. En adición, modificaciones químicas pueden hacer al quitosán soluble en agua. Se ha reportado que, por medio de un tratamiento de quitina con álcali en condiciones homogéneas, con cerca de 50% de desacetilación llega a ser soluble en agua^[9].

Determinación de la solubilidad.

Se secaron papeles filtro para cada una de las muestras en una estufa marca BG a 70°C, obteniendo su peso sin humedad. Por otro lado se peso 1g de cada una de las muestras por separado en una balanza Ohaus, se depositaron en un vaso de precipitado de 150ml y se adicionaron 100mL de solución de ácido acético al 1%. Se dejaron en agitación continua por 24 hrs y finalmente con los papeles filtro secos se procedió a filtrar cada una de las soluciones y el papel filtro con los residuos de cada solución se dejaron secar en una estufa por 24 hrs. Los datos de solubilidad se obtuvieron por diferencia de peso con una regla de 3 simple.

Objetivo 2

Actividad 1. Determinación de peso molecular medio por viscosimetría intrínseca.

Se prepararon 5 concentraciones de solución de quitosán en 25mL de buffer de acetato de sodio 0.2M y ácido acético 0.3M de pH de 4.6. Después se filtraron las soluciones para eliminar cualquier partícula, la cual pudiera quedar atrapada en el capilar del tubo de Ostwald obstruyendo el paso de la solución.

Se procedió a colocar 4ml de cada solución de quitosán en la parte A del tubo de Ostwald (60-100seg) como se muestra en la figura 8.

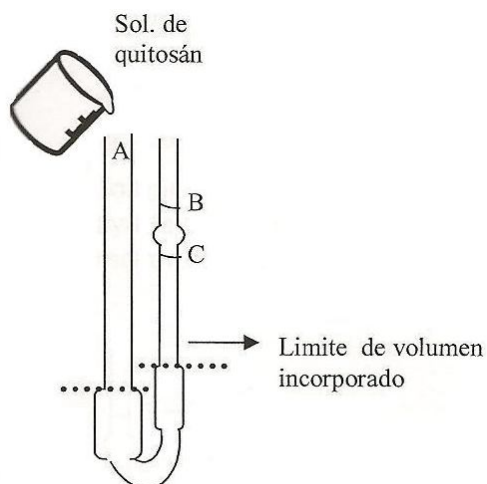


Figura 8. Tubo Ostwald

Posteriormente se introdujo el tubo con los 4mL de la solución de quitosán en un baño térmico regulado previamente a una temperatura de 25°C como lo muestra la figura 9, permitiendo intervalos de variación de $\pm 0.1^\circ\text{C}$ en cada prueba con ayuda de un calentador digital con agitador marca Grant, se colocó un termómetro para corroborar la temperatura.

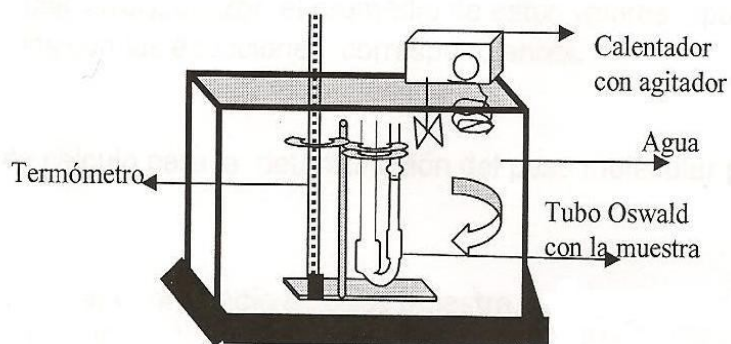


Figura 9. Montaje Experimental

El baño térmico se llenó con agua hasta que cubrió el tubo, permitiendo visibles los puntos B y C.

Se verificó la temperatura de la solución de quitosán mediante equilibrio térmico hasta que fue de $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

Posteriormente se succionó la solución de quitosán con ayuda de una propipeta hasta que se cubrieron los puntos B y C evitando que sobrepasar el nivel de agua del baño térmico. Se tomó el tiempo de caída en los puntos B y C (ver figura 10), con la

ayuda de un cronómetro se procuró que los tiempos no tuvieran una variación de $\pm 0.2\text{seg.}$

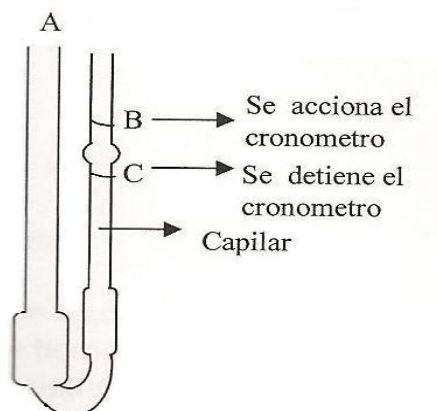


Figura10. Ejemplo de experimento

Se debieron registrar 5 repeticiones de cada muestra en segundos incluyendo la solución de buffer (asegurando que el capilar estuviera limpio y seco para evitar cualquier error), se utilizó el promedio de estos valores para realizar cálculos con las ecuaciones correspondientes.

- Se determinó la viscosidad relativa

$$\eta_{\text{rel}} = t_M/t_0$$

- Se determinó la viscosidad específica

$$\eta_{\text{esp}} = \eta_{\text{rel}} - 1$$

- Se determinó la viscosidad específica reducida

$$\eta_{\text{red}} = \eta_{\text{esp}}/[\text{quitosán}]$$

Donde:

η_{red} =viscosidad específica

η_{esp} =viscosidad reducida

[quitosán]=concentración de quitosán (g/ml)

- Se determinó la viscosidad intrínseca

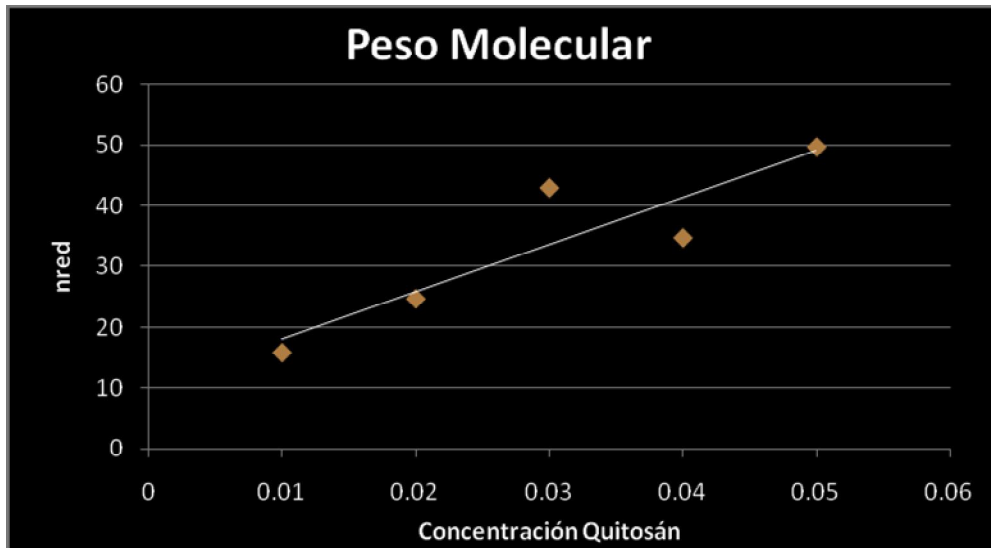


Figura 11. Viscosidad específica reducida vs concentración de quitosán.

A partir de los cálculos realizados anteriormente se graficaron viscosidad específica reducida en función de la concentración de quitosán ajustando los datos a una tendencia lineal $y=mx+b$, ver figura 11, donde b fue el valor de la viscosidad intrínseca

Se determinó el peso molecular. A partir de la ecuación de Mark-Houwink

$$[\eta]= KM^a$$

Donde K y a son constantes que dependen del solvente y el polímero, que para este caso usa las constantes $K=76dLg^{-1}$, $a=0.76$ [24].

Se realizó un arreglo algebraico para despejar a M, y así se pudo conocer el peso molecular.

$$M = 10^{(\text{Log}[\eta] - \text{Log}K)/a}$$

Esta determinación se llevó a cabo por duplicado.

Objetivo 3

Actividad 1. Determinación de viscosidad de las soluciones de quitosán.

Se prepararon soluciones de ácido acético al 1% w/v, después se pesaron 2g de quitosán por triplicado de cada una de las muestras de los sistemas en una balanza Ohaus, se depositaron en un vaso de precipitado de 250mL y se adicionaron 200mL de la solución de ácido acético. Se dejaron en agitación constante durante 24hrs y finalmente se procedió a tomar

los valores de viscosidad en Cps con un viscosímetro Brookfield RVDV-II+P, usando la aguja 2 y a una velocidad de 60rpm a 25°C.

Esta determinación se llevó a cabo por triplicado y se analizó la varianza con un $p \leq 0.05$.

Actividad 2. Determinación de la relación entre viscosidad, grado de desacetilación y pesos moleculares de diferentes quitinas desacetiladas respecto al tiempo.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Objetivo 1.

Actividad 1. Obtención de quitosanos y solubilidad.

Se montaron los diferentes sistemas bajo las condiciones establecidas de desacetilación y se obtuvieron los siguientes datos de rendimiento promedio durante la obtención del quitosán.

	Tiempo	Rendimiento		Tiempo	Rendimiento
SISTEMA HETEROGENEO		%	SISTEMA HOMOGENEO		%
	30MIN	96		30MIN	90.4
12.5M	1HR	94	12.5M	1HR	92
	2HR	88.8		2HR	86.2
	30MIN	82.6		30MIN	73.8
25M	1HR	82.6	25M	1HR	80.7
	2HR	81		2HR	74.8

Tabla 2. Rendimiento de obtención de quitosanos.

Lo que se puede observar en la tabla anterior es que los rendimientos en los sistemas de baja concentración, ya sea en sistema homogéneo o heterogéneo, son mayores a los rendimientos obtenidos en el sistema de alta concentración. Esto no necesariamente significa que sea el mejor sistema para la obtención de quitosán, ya que puede ser que la diferencia se deba a que en los sistemas de baja concentración, la quitina no se haya desacetilado completamente.

Después se evaluaron las solubilidades de cada uno de los quitosanos obtenidos y se obtuvieron los siguientes resultados promedios, tanto de solubilidad como de residuos sin solubilizar:

SISTEMA HOMOGENEO 12.5M			SISTEMA HETEROGENEO 12.5M		
	% solubilidad	% Residuos		% solubilidad	% Residuos
30min	0	115.065	30min	0	102.99
1hr	0	111.235	1hr	0	102.35
2hrs	0	120.775	2hr	0	98.085
SISTEMA HOMOGENEO 25M			SISTEMA HETEROGENEO 25M		
	% solubilidad	% Residuos		% solubilidad	% Residuos
30min	100	6.6	30min	100	10.885
1hr	100	4.245	1hr	100	2.87
2hrs	100	1.415	2hrs	100	0.95

Tabla 3. Solubilidades promedio de los diferentes sistemas.

En la tabla anterior se puede observar que en los sistemas de alta concentración se obtuvieron resultados más bajos de residuos sin solubilizar en las soluciones de cada una de las muestras, mientras que en los de baja concentración sucedió lo contrario. También podemos observar que los valores de porcentaje exceden el 100% que comúnmente se esperaría, esto se puede deber a que durante la filtración y el secado se formó una película de la solución de quitosán en los papeles filtros usados.

Actividad 2. Evaluación del Porcentaje de desacetilación.

Después de cada una de las valoraciones, se realizó la lectura de los volúmenes de equivalencia, y con estos datos se obtuvieron los siguientes resultados promedios que se observan en el gráfico 1:

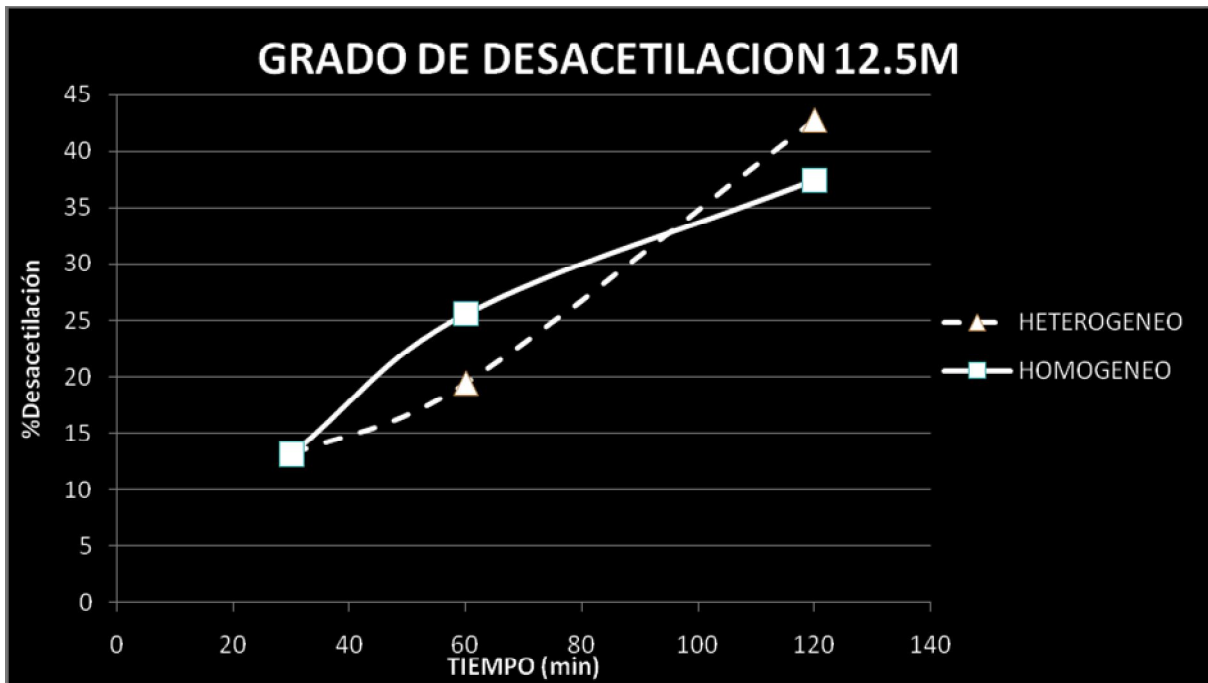


Gráfico 1. Grado de desacetilación de la quitina en sistema homogéneo y heterogéneo de baja concentración.

Se observa que el grado de desacetilación en los sistemas de baja concentración es muy bajo, por lo que se puede decir que no se obtuvieron los quitosanos deseados, ya que se consideran quitosanos a partir de un 65-70% de desacetilación. Con el gráfico anterior también podemos darnos cuenta que los porcentajes de rendimiento reportados en la tabla 2 no son un parámetro para basarse en la obtención de quitosán, así también se explica la poca solubilidad de las quitinas tratadas con estos sistemas. También podemos determinar que el grado de desacetilación se incrementa a mayor tiempo de tratamiento.

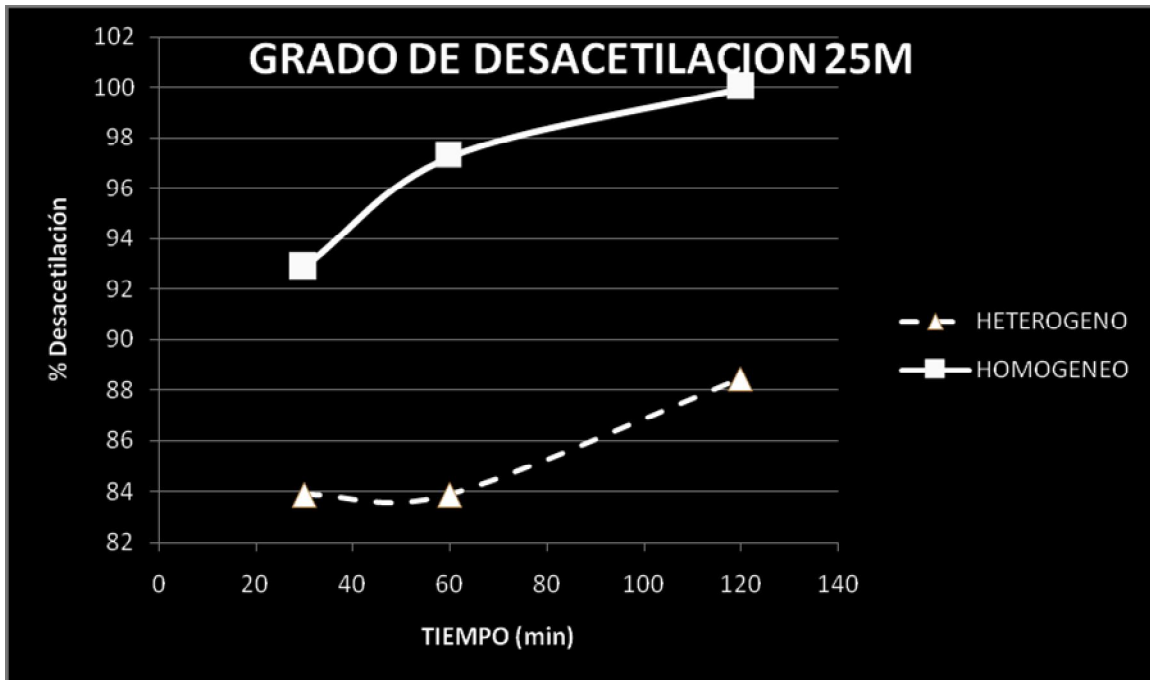


Gráfico 2. Grado de desacetilación de quitinas tratadas en sistema homogéneo y heterogéneo de alta concentración.

Aquí se puede observar que en los sistemas de alta concentración es donde se obtienen los quitosanos, ya que se consideran quitosanos cuando se llega a obtener valores arriba del 65-70% de desacetilación. Con esto se puede constatar que los valores de rendimiento no son una referencia para un proceso de obtención de quitosán. También podemos ver que el porcentaje de desacetilación es mayor respecto al tiempo. Y que bajo el sistema homogéneo de desacetilación, se obtiene los valores más altos de desacetilación. Además coincide que los quitosanos resultantes son totalmente solubles.

Objetivo 2.

Actividad 1. Determinación de peso molecular medio por viscosimetría intrínseca.

Los datos obtenidos de los sistemas de alta concentración después de mantenerse en agitación constante durante 24hrs y calcular los pesos moleculares promedios, se obtuvieron lo que se observa en el gráfico 3:

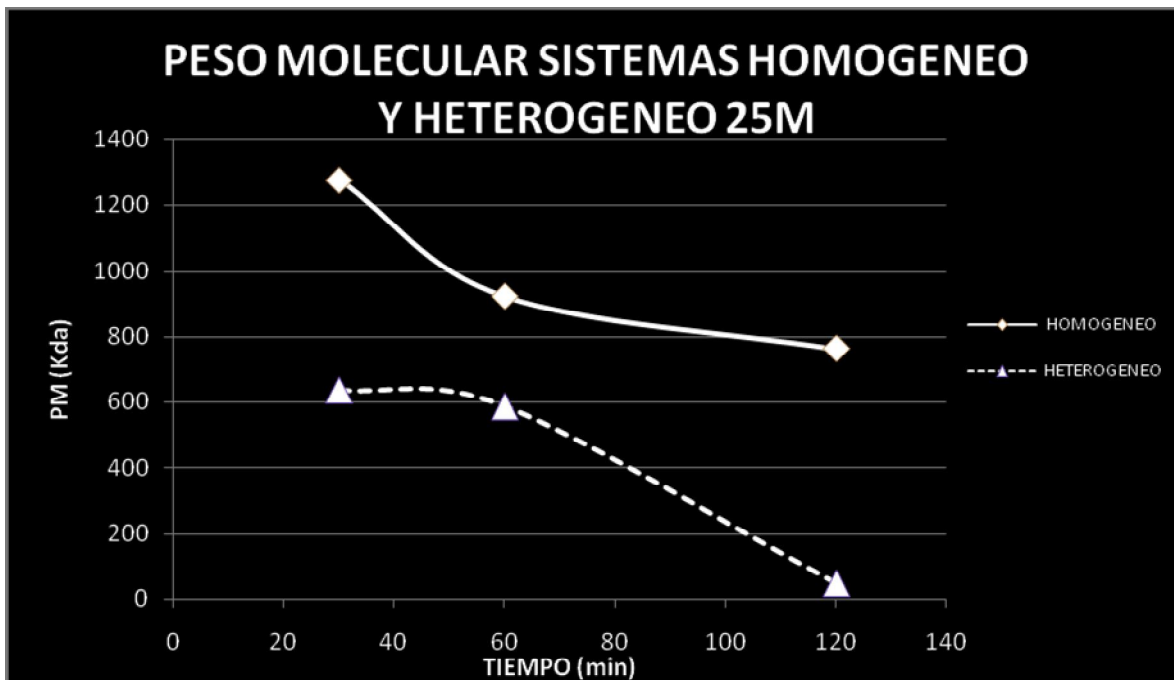


Gráfico 3. Peso molecular en sistemas homogéneo y heterogéneo de alta concentración.

Se puede observar que los pesos moleculares para el sistema homogéneo de alta concentración van en orden decreciente respecto al tiempo, así como el sistema heterogéneo, esto nos dice que a mayor tiempo de desacetilación la cadena del biopolímero se rompe en cadenas más pequeñas. Las dos muestras tratadas en este caso presentan comportamientos parecidos dependiendo del tiempo.

Los pesos moleculares de los sistemas de baja concentración (12.5M) no se pudieron medir, ya que como se ha comentado anteriormente, el producto obtenido en dichos sistemas no se puede considerar quitosán, ya que su grado de desacetilación es menor al 65% en todas las muestras, lo cual se puede constatar al ver los resultados de solubilidad.

Objetivo 3.

Actividad 1. Determinación de viscosidad de las soluciones de quitosán.

Se tomaron las lecturas de cada uno de los sistemas después de dejar en agitación constante las soluciones durante 24hrs.

Para los sistemas de alta concentración se obtuvieron las siguientes lecturas promedio de cada una de las muestras por triplicado en Cps, ver gráfico 5.

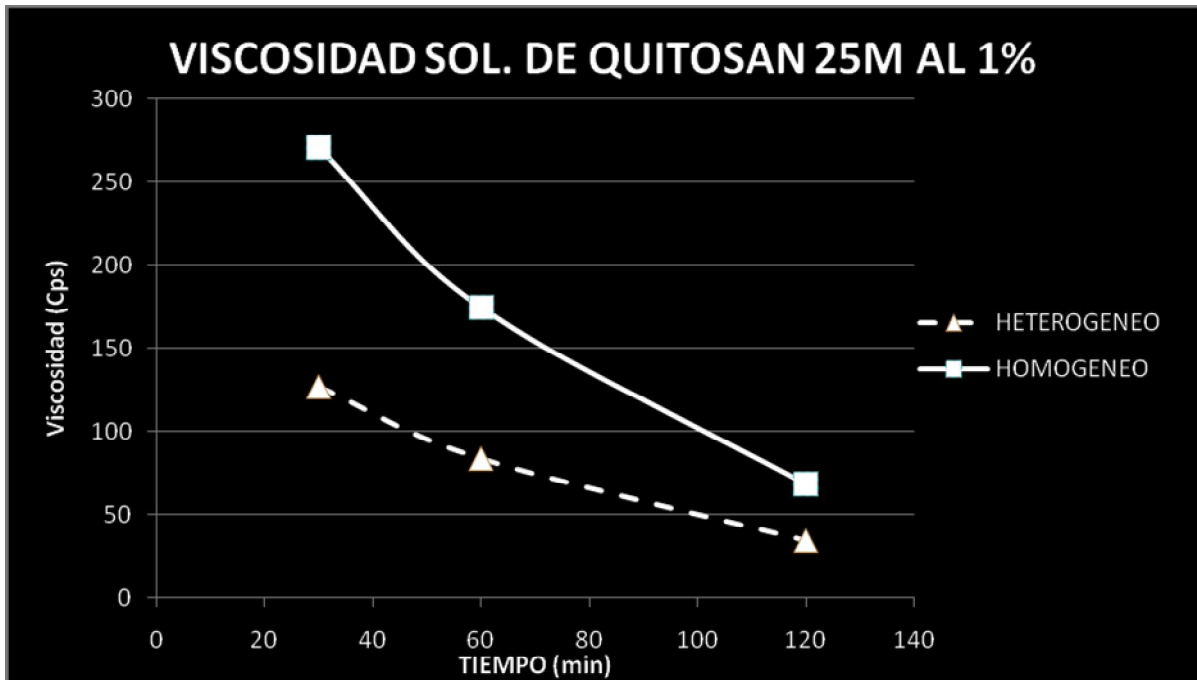


Gráfico 4. Valores de viscosidad promedio en los sistemas de alta concentración.

Se observa que los valores de viscosidad en cada uno de los sistemas hay un decremento respecto al tiempo, es decir, que es inversamente proporcional al tiempo de desacetilación. Al realizar un análisis estadístico pudimos constatar que existe diferencia significativa entre los tiempos de cada sistema.

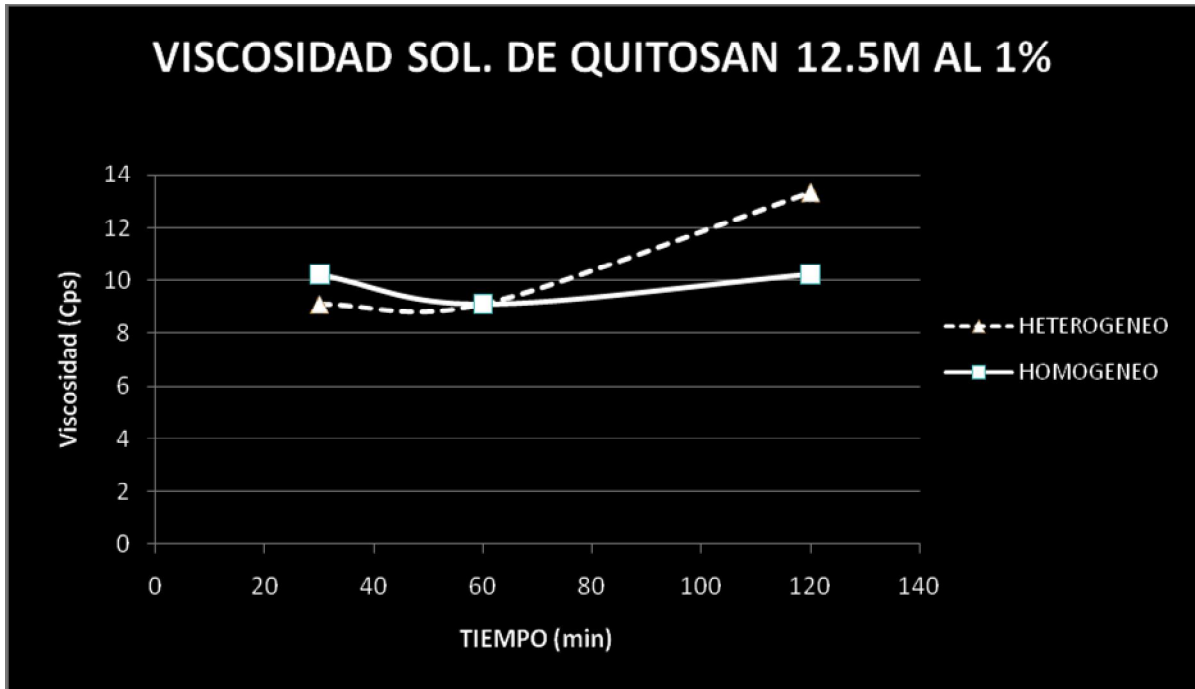


Gráfico 5. Valores obtenidos de viscosidad promedio (Cps) en los sistemas de baja concentración (12.5M).

De las muestras de quitina tratadas bajo estas condiciones de desacetilación, vimos anteriormente que no se solubilizaban y que se tuvieron bajos porcentajes de desacetilación. Sin embargo, las muestras fueron preparadas y la parte que se solubilizó, se filtró y se le realizó la medición de viscosidad. En el gráfico 6, se observa que la viscosidad se incrementa con respecto al tiempo en ambos sistemas. Al realizar un análisis estadístico pudimos constatar que si hay diferencia significativa en los sistemas de baja concentración. Tomando como referencia la solubilidad de los sistemas de 12.5M podemos decir que la viscosidad presenta este comportamiento debido a la poca solubilidad de los mismos.

Actividad 2. Determinación de la relación entre viscosidad, grado de desacetilación y pesos moleculares de diferentes quitinas desacetiladas respecto al tiempo.

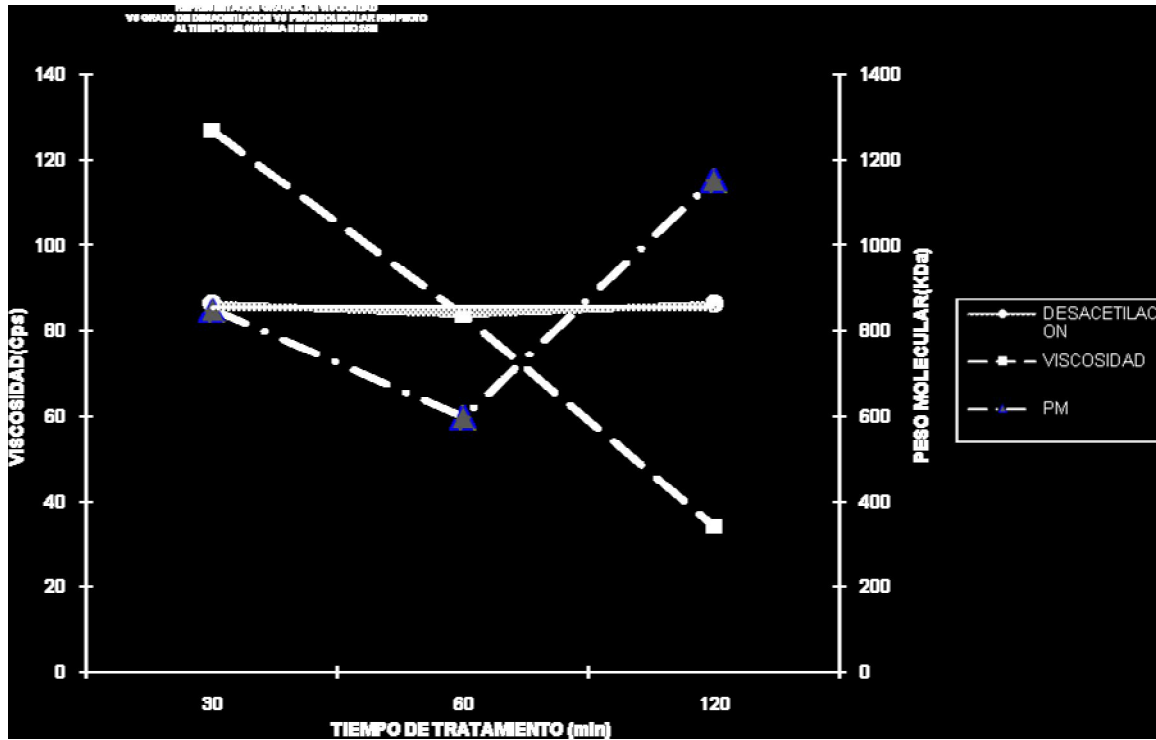


Gráfico 6. Relación entre los diferentes parámetros estudiados para el sistema heterógeno 25M.

En el gráfico anterior podemos observar que la viscosidad presenta un valor menor conforme pasa el tiempo, el grado de desacetilación se mantiene casi constante en valores entre 80-90% y el peso molecular se muestra con un valor menor en el sistema de 1hr.

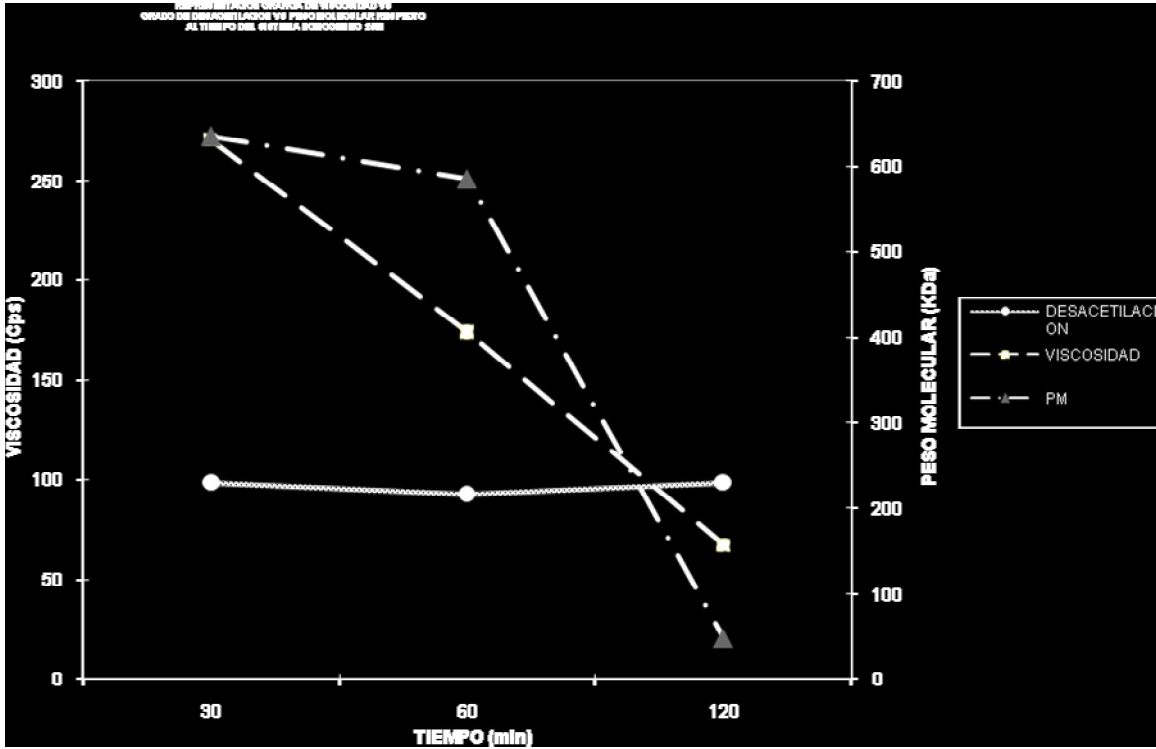


Gráfico 7. Relación entre los diferentes parámetros estudiados para el sistema homogéneo 25M.

En este gráfico podemos observar que los valores de viscosidad van decreciendo su magnitud respecto al tiempo, el peso molecular también se ve cada vez menor en cuanto a sus valores con respecto al tiempo, y el grado de desacetilación se mantiene constantes en valores cercanos al 100%.

CONCLUSIONES:

De acuerdo con los objetivos planteados y con base en los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

- Se obtuvieron diferentes quitosanos a nivel laboratorio en sistema homogéneo y heterogéneo, bajo diferentes condiciones de concentración y tiempo.
- Se evaluó el porcentaje de desacetilación por titulación potenciométrica: el quitosán 25M presentó valores de 82-100%, el quitosán 12.5M presentó valores de 10-45%.
- También se logró evaluar sus solubilidades por diferencia de peso, teniendo mayor solubilidad los quitosanos de 25M
- Por medio de viscosimetría intrínseca, se determinó el peso molecular de los quitosanos 25M: el de sistema homogéneo presentó valores de 762.53 - 1277kDa, mientras que el sistema heterogéneo presentó valores de 48 - 635.35kDa .
- Se obtuvieron los valores de viscosidad, mostrando mayores valores de viscosidad para los quitosanos 25M, desde 34.23 a 270.23Cps dependiendo del tipo de sistema. Los quitosanos 12.5M presentaron valores de 9.11-13.33Cps, independientemente del tipo de sistema.
- Se relacionaron la viscosidad, el peso molecular y el grado de desacetilación en un solo gráfico, los resultados indican que el quitosán presenta cierto comportamiento lineal respecto al tiempo en algunas de las propiedades fisicoquímicas evaluadas. Los datos de mayor peso molecular (1277KDa), mayor grado de desacetilación (100%) y mayor viscosidad (270.23Cps) se obtuvieron en sistema homogéneo 25M

Por lo que se concluye que el quitosán 25M obtenido a nivel laboratorio a partir de los desechos de camarón es el que mejores resultados da en cuanto a propiedades fisicoquímicas evaluadas.

ANEXOS

Datos Estadísticos.

SISTEMAS P/P					
FV	SC	GI	CM	F	p
Tiempo	65290.3878	2	32645.1939	1035.35105	5.1176E-24
Sistema	35787.0422	1	35787.0422	1134.99561	1.0117E-21
interacción	9084.04778	2	4542.02389	144.051502	4.2752E-14
Error	756.733333	24	31.5305556		
Total	110918.211	29			

SISTEMAS P/V					
FV	SC	GI	CM	F	p
Tiempo	21.7937444	2	10.8968722	12.3774958	0.00020244
Sistema	2.44942222	1	2.44942222	2.78223995	0.10831164
interacción	15.9655444	2	7.98277222	9.06743948	0.00116636
Error	21.1290667	24	0.88037778		
Total	61.3377778	29			

SISTEMA HOMOGENEO P/P						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	61539.12667	2	30769.56333	313.413692	8.52311E-07	5.14325285
Dentro de los grupos	589.0533333	6	98.17555556			
Total	62128.18	8				

SISTEMA HETEROGENEO P/P						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	12741.02	2	6370.51	224.20847	2.30192E-06	5.14325285
Dentro de los grupos	170.48	6	28.41333333			
Total	12911.5	8				

SISTEMA HOMOGENEO P/V						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3.476155556	2	1.738077778	0.911271249	0.451242459	5.14325285
Dentro de los grupos	11.44386667	6	1.907311111			
Total	14.92002222	8				

SISTEMA HETEROGENEO P/V						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	7.26	2	3.63	2.889437236	0.132172885	5.14325285
Dentro de los grupos	7.5378	6	1.2563			
Total	14.7978	8				

BIBLIOGRAFIA:

1. Balázs N., and P. Sipos, 2007. "Limitations of pH-potenciometric titration for the determination of the degree of deacetylation of chitosan". *Carbohydrate Research*, 342, pp. 1465-1471.
2. Bough, W.A., W.L. Salter, and B.E. Perkins, 1978. "Influence of Manufacturing Variables on the Characteristics and Effectiveness of Chitosan Products. I. Chemical Composition, Viscosity, and Molecular-Weight Distribution of Chitosan Products". *Biotechnology and Bioengineering*, v. XX, pp. 1931-1943.
3. Brine, C.J., and P.R. Austin, 1981. "Chitin variability with species and method of preparation". *Comp. Biochem., Physiol*, 70B, pp. 173.
4. Chang, Ke Liang B., Tsai, Gengia., Lee, John and Wen-Rong Fu, 1997. "Heterogeneous N-deacetylation of chitin in alkaline solution". *Carbohidrate research* 303, pp. 327-332.
5. Chatelet, Claire., Damour, Odile and Alain Domard, 2001. "Influence of degree of acetylation on some biological properties of chitosan films", *Biomaterials* 22, pp. 261-268.
6. Fernández, J. Iraima, 1999. "Polímeros en solución y aplicación de los polímeros en la industria petrolera". Departamento de manejo integrado de producción, Venezuela.
7. González G. V. A., Guerrero, Salazar C.A., y M. U. Ortiz, 2002. "Estructura química y compatibilidad de poliamidas con quitina y quitosán". *Ciencia UANL*, No 5, vol 1, pp. 39-47.
8. Green, J.H., and A. Kramer, 1984. "Food processing waste management". AVI Publishing Co., pp. 214. Westport, CT,
9. Heux, L., Brugnerotto, J., Desbrières, J., Versali, M.F. and M. Rinaudo, 2000. "Solid state NMR for determination of degree of acetylation of chitin and chitosan", *American Chemical Society*, n.4, vol.1, pp 746-751.

10. Jiang X., Chen., L., and W. Zhong, 2003. "A new linear potentiometric titration method for the determination of deacetylation degree of chitosan". *Carbohydrate Polymers*, n.54, pp. 457-463.
11. Johnson, E.L. and Q.P. Peniston, 1982. "Utilisation of shellfish waste for chitin and chitosan production". AVI Publishing Co. pp. 415. Westport, CT.,
12. Kasaai, M.R., Charlet, G., and J. Arul, 2000. "Master curve for concentration dependence of semi-dilute solution viscosity of chitosan homologues: The Martin equation". *Food Research International*, No 33, pp. 63-67.
13. Knaul, Z. Jonathan, Kasaal, M.R and V. Tam Bui, 1998. "Characterization of deacetylated chitosan and chitosan molecular weight review". *Canadian Journal of Chemistry*, pp. 1699-1706.
14. Knorr, D. 1991. "Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management". *Food Technol.* vol. 45, no. 1, pp. 114
15. Kubota, Naoji and Yukari Eguchi, 1997. "Facile preparation of water-soluble N-acetylated chitosan and molecular weight dependence of its water-solubility". *Polymer Journal*, vol. 29, No. 2, pp. 123-127.
16. Kurita, K., Tomita, K., and others, 1993. "Squid chitin as potential alternative chitin source: deacetylation behavior and characteristic properties". *Journal of Polymer Science*, vol. 31, pp. 485-491
17. Matsushashi S., and T. Kume, 1997. "Enhancement of antimicrobial activity of chitosan by irradiation". *Journal of Science Food Agriculture*, vol 73, pp. 237-241.
18. Ming Larng Tsaih and Rong H. Chen, 2003. "The effect of reaction time and temperature during heterogenous alkali deacetylation on degree of deacetylation and molecular weight of resulting chitosan". *Journal of Applied Polymer Science*, vol 88, pp. 2917-2923

19. Miranda, S. P. Castro, 2000. "Evaluación de la actividad antibacteriana de quitosán, caracterización física y químicamente". Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, Edo de México, México.
20. Mohammad R. K., Arul Joseph and C. Gérard, 2000. " Intrinsic Viscosity-Molecular Weight Relationship for Chitosan". Journal of Polymer Science, vol.38, pp. 2591-2598.
21. Muzzarelli, R. 1977. "Chitin", 1ª ed., Pergamon Press. Oxford.
22. No K, Hong and P. Samuel Meyers, 1995. " Preparation and characterization of chitin and chitosan". Journal of Aquatic Food Product Technology, n. 4. vol. 2, pp. 27-52.
23. Rabea, E.I., Mohamed E.T., Stevens C. V., Amaghe G., and Steurbaut, 2003. "Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action". American Chemistry Society, n.4, vol 6, pp 1457-1464.
24. Rinaudo, M., Milas, M., and P.L. Dung, 1993. "Characterization of chitosan. influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion". International Journal of Biological Macromolecules, no. 15, pp. 281-285.
25. Rinaudo, M., Pavlov, G., and J. Desbrières, 1999. "Influence of acetic acid concentration on the solubilization of Chitosan". Polymer, n.40, pp.7029-7030.
26. Roller S., and N. Covill, 1999. "The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice". International Journal of Food Microbiology, n.47, pp 67-77.
27. Shahidi F., Vidana A.J. K., and Y.J. Jeon, 1999. "Food applications of chitin and chitosans". Trends in food science and technology n. 10, pp. 37-51.
28. Shirai, K. G., and G. M. Hall, 1996. "Quitina: ocurrencia, propiedades y aplicaciones". Ciencia, n. 47, vol. 4, pp. 317-328.
29. Solicitud de Patente "Proceso para la extracción de quitina a partir de crustáceos y su conversión a quitosán. En trámite Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial No. de expediente 005444. mayo 31 2000. No de folio 1175930-5.UNAM.
30. Terbojecih M. and A. Cosani, 1997. "Molecular Weight determination of Chitin and Chitosan". Chitin handbook, Padova.

31. Tolaimate, A., and others, 2000. "On the influence of desacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin". *Polymer*, pp. 2463-2469.
32. Vílchez Maldonado, Susana, 2005. "Nuevos tratamientos de lana con enzimas". Consejo de investigaciones químicas y ambientales de Barcelona (IIQAB), Universidad de Barcelona, pp. 17-29.
33. Wang, Q. Z., Chen, X.G., Wang, S.X., Liu, C.S., Meng, X.H., and C.H. Liu, 2006. "Protonation constants of chitosan with different molecular weight and degree of deacetylation". *Carbohydrate Polymers*, n.65, pp. 194-201.
34. Wanjun T., Cunxin W., and C. Donghua, 2005. "Kinetic studies on the pyrolysis of chitin and chitosan". *Polymer degradation and stability*, n. 87, pp. 389-394.
35. Wu, A.C.M., and W.A. Bough, 1978. "A study of variables in the chitosan manufacturing process in relation to molecular-weight distribution, chemical characteristics and waste-treatment effectiveness". MIT Sea Grant Program, p.88. Cambridge, MA.
36. Yoksan R., Akashi M., Miyata, M., and S. Chirachanchai, 2004. "Optimal y-ray dose and irradiation conditions for producing low-molecular weight chitosan that retains its chemical structure". *Radiation Research*, n. 161, pp 471-478.