



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

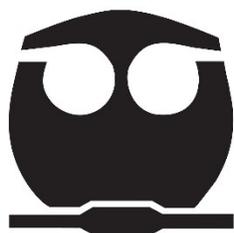
---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE  
QUITOSANA MINERALIZADA A PARTIR DE  
RESIDUOS DE CAMARÓN**

**TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICAS DE ALIMENTOS**

**PRESENTAN  
CAMPOS RODRÍGUEZ TANIA  
Y  
DE LA CRUZ OCHOA MARTHA MAURA**



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2021



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## **JURADO ASIGNADO**

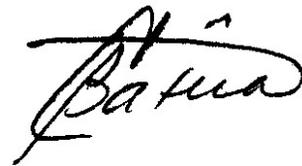
Presidente            Dra. María del Carmen Durán Domínguez  
Vocal                M. en C. Agustín Reyo Herrera  
Secretario          M. en A.I. Landy Irene Burgos Ramírez  
1 er. Suplente      M. en C. Rolando Salvador García Gómez  
2do. Suplente      Dra. Marisela Bernal González

### **SITIO EN DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

Laboratorios E-301, 302, 303, de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (LIQA Y QA), Edificio E-3, Alimentos y Química Ambiental, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM.

### **ASESOR DEL TEMA:**

Dra. María del Carmen Durán Domínguez



---

### **SUPERVISOR TÉCNICO:**

Dra. Arany del Carmen Borja Urzola



---

### **SUSTENTANTES:**

Tania Campos Rodríguez



---

Martha Maura De La Cruz Ochoa



---

## DECLARATORIA

Declaramos conocer el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, plasmado en la Legislación Universitaria. Con base en las definiciones de integridad y honestidad ahí especificadas, aseguramos mediante nuestra firma al calce, que el presente trabajo es original y enteramente de nuestra autoría. Todas las citas de, o referencias a, las obras de otros autores aparecen debida y adecuadamente señaladas, así como acreditadas mediante recursos editoriales convencionales.



---

Tania Campos Rodríguez



---

Martha Maura De La Cruz Ochoa

## RECONOCIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por el apoyo parcial para la adquisición de reactivos y materiales a través de los siguientes programas: Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado de la Facultad de Química, PAIP, claves 5000-9067.y 5000-9065, Programa de Apoyo a Proyecto de Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de los proyectos, PAPIME, claves EN103704, PE101709 y PE100514 y al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, PAPIIT, claves IN112214 e IN115118.

# ÍNDICE

	Página
<b>ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS</b>	V
<b>ABREVIATURAS Y SIGLAS</b>	VIII
<b>RESUMEN</b>	X
<b>CAPÍTULO 1. Problemática</b>	1
1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. Objetivo general	2
1.3. Objetivos particulares	3
1.4. Hipótesis	3
1.5. Alcances	3
<b>CAPÍTULO 2. Marco teórico</b>	4
2.1. Industria camaronera. Generalidades del camarón café ( <i>Farfantepenaeus aztecus</i> )	4
2.2. Quitina y quitosana <sup>1</sup>	7
2.2.1. Propiedades fisicoquímicas de la quitina y quitosana	7
2.2.2. Solubilidad	9
2.2.3. Grado de n-acetilación	10
2.2.4. Métodos de extracción de la quitosana	11
2.3. Herbicidas triazínicos	12
2.3.1. Metribuzina	14

---

<sup>1</sup> La quitosana es una goma y en la química de alimentos se usa el sufijo -ana para ellas, derivado del nombre de la molécula de la que se originó donde sustituye el final del nombre de esa molécula. Por ejemplo, de dextrosa, dextrana. Por tanto, si originalmente provino de la quitina debió nombrarse quitana, pero no se hizo así. En esta tesis se usará la palabra quitosana ya que hay varias publicaciones que le dan otros nombres: quitosano, quitosán, quitosan (Nota de la asesora)

	Página
2.3.2. Prometrina	14
2.3.3. Terbutilazina	14
2.3.4. Principales métodos de extracción de triazinas en soluciones acuosas	14
2.4. Extracción en fase sólida, EFS	16
2.4.1. Adsorbentes usados en la extracción en fase sólida	19
2.4.1.1. Adsorbentes convencionales	20
2.4.1.2. Adsorbentes no convencionales	20
2.4.1.3. Bioadsorbentes	23
<b>CAPÍTULO 3. Desarrollo experimental</b>	<b>26</b>
3.1. Extracción de quitosana a partir de residuos de camarón	27
3.1.1. Elaboración de harina de camarón	27
3.1.2. Preparación del sistema MeOH-H <sub>2</sub> O-CaCl <sub>2</sub>	27
3.1.3. Obtención de quitosana mediante el sistema MeOH- H <sub>2</sub> O-CaCl <sub>2</sub>	27
3.1.4. Obtención de quitosana por el método químico convencional	28
3.1.5. Caracterización química de la quitosana	28
3.2. Elaboración de soluciones patrón de plaguicidas	29
3.3. Condiciones de la cromatografía de gases	29
3.4. Extracción en fase sólida de plaguicidas triazínicos	29
3.4.1. Elaboración de las disoluciones de plaguicidas: metribuzina, prometrina y terbutilazina	29
3.4.2. Preparación de cartuchos	30
3.4.3. Proceso de extracción en fase sólida con quitosana mineralizada como adsorbente	30
3.4.4. Optimización del proceso de extracción en fase sólida de la metribuzina, prometrina y terbutilazina	31
3.4.4.1. Efecto de la saturación de la matriz	31

	Página
3.4.4.2. Efecto del disolvente de elución (tipo y volumen)	31
3.4.4.3. Efecto de la cantidad de adsorbente	32
3.4.4.4. Comparación de la quitosana mineralizada con los cartuchos comerciales <i>C<sub>18</sub></i> y <i>OASIS HLB</i>	32
3.5. Análisis estadísticos de los datos experimentales	32
<b>CAPÍTULO 4. Resultados y discusión</b>	<b>33</b>
4.1. Caracterización química	33
4.1.1. Análisis bromatológico y análisis elemental	33
4.1.2. Espectroscopía infrarroja ( <i>FTIR</i> , en inglés)	35
4.1.3. Grado de n-acetilación	38
4.1.4. Análisis de difracción de rayos X (DRX)	38
4.1.5. Microscopía electrónica de barrido ( <i>SEM</i> , en inglés) y Espectroscopía de energía dispersa ( <i>EDS</i> , en inglés)	40
4.2. Optimización del proceso de extracción en fase sólida de la metribuzina, prometrina y terbutilazina	43
4.2.1. Efecto de la saturación de la matriz	44
4.2.2. Efecto del disolvente de elución (tipo y volumen)	45
4.2.3. Efecto de la cantidad de adsorbente	47
4.2.4. Comparación de la adsorbente quitosana mineralizada con cartuchos comerciales <i>C<sub>18</sub></i> y <i>OASIS HLB</i>	48
4.2.5. Posibles aplicaciones de la quitosana mineralizada como fase sólida en técnicas de preparación de muestras	49
<b>CAPÍTULO 5. Conclusiones y recomendaciones</b>	<b>51</b>
5.1. Conclusiones	51
5.2. Recomendaciones	52
<b>ANEXOS</b>	<b>53</b>

		Página
A.1.	Análisis estadístico correspondiente al análisis bromatológico de las muestras de quitosana evaluadas	53
A.2.	Análisis estadístico correspondiente al porcentaje de N-acetilación respecto a las muestras de quitosana evaluadas	54
A.3.	Análisis estadístico de la SPE con quitosana obtenida con el sistema MeOH-H <sub>2</sub> O-CaCl <sub>2</sub> y cartuchos comerciales ( <i>HLB</i> y <i>C<sub>18</sub></i> )	55
A.4.	Acervo fotográfico	56
A.5.	Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación	58
<b>Referencias bibliográficas</b>		60

#### **Notas:**

Esta tesis usa el punto decimal de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana respectiva (DOF, 2009)

Todos los acrónimos, siglas y palabras que no están en español se presentan con cursivas

# ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

## LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 2.1. Composición química de la harina de cefalotórax de camarón (Carranco <i>et al.</i> , 2011)	6
Tabla 2.2. Propiedades generales de la quitina y quitosana (Barros <i>et al.</i> , 2015; Mármol <i>et al.</i> , 2004; Pacheco, 2013)	9
Tabla 2.3. Métodos de extracción de la quitosana, ventajas y desventajas (Arbia <i>et al.</i> , 2013; Hamed <i>et al.</i> , 2016).	11
Tabla 2.4. Propiedades fisicoquímicas de los plaguicidas estudiados ( <i>PPDB</i> , 2019)	13
Tabla 2.5. Ejemplos de algunos materiales adsorbentes empleados en la EFS (Płotka-Wasyłka <i>et al.</i> , 2016)	21
Tabla 2.6. Ejemplos de la aplicación de bioadsorbentes para el análisis de compuestos (Godage <i>et al.</i> , 2020)	25
Tabla 3.1. Condiciones de operación del cromatograma de gases con detector de ionización de flama ( <i>FID</i> , por sus siglas en inglés) Agilent 7890 A	29
Tabla 4.1. Análisis bromatológico de harina de camarón y diversas muestras de quitosana	34
Tabla 4.2. Determinación de C-H-N-S por análisis elemental para la harina de camarón y diversas muestras de quitosana	35
Tabla 4.3. Determinación del grado de N-acetilación y N-desacetilación de las muestras de quitosana evaluada	38
Tabla A.1. Análisis de varianza (ANDEVA, <i>ANOVA</i> por sus siglas en inglés) del análisis bromatológico, respecto a las muestras de quitosana evaluadas	53
Tabla A.2. Análisis de varianza (ANDEVA, <i>ANOVA</i> por sus siglas en inglés) del porcentaje de N-acetilación, respecto a las muestras de quitosana evaluadas	54
Tabla A.3. Análisis de varianza (ANDEVA, <i>ANOVA</i> por sus siglas en inglés) de la SPE con quitosana obtenida con el sistema MeOH-H <sub>2</sub> O-CaCl <sub>2</sub> y cartuchos comerciales ( <i>HLB</i> y <i>C<sub>18</sub></i> )	55

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 2.1. Anatomía del camarón (FAO, 2020)	4
Figura 2.2 Estructura química de la quitina y la quitosana (Goodrich y Winter, 2007)	7
Figura 2.3. Estructura química de los herbicidas triazínicos evaluados (PPDB, 2019)	12
Figura 2.4. Colector de vacío con columnas de extracción en fase sólida (EFS), comúnmente utilizado para realizar operaciones de EFS (Moldoveanu, 2015)	17
Figura 2.5. Procedimiento típico de la extracción en fase sólida (Andrade <i>et al.</i> , 2016)	18
Figura 2.6. Evolución de los materiales para EFS (Płotka-Wasyłka <i>et al.</i> , 2016)	19
Figura 3.1. Diagrama del proceso experimental realizado	26
Figura 3.2. Material utilizado en la EFS a) Quitosana obtenida con el sistema MeOH-H <sub>2</sub> O-CaCl <sub>2</sub> , filtros comerciales y cartuchos de extracción y b) Cartuchos con quitosana obtenida con el sistema MeOH-H <sub>2</sub> O- CaCl <sub>2</sub> como adsorbente	30
Figura 3.3. Sistema utilizado para la extracción en fase sólida	31
Figura 4.1. Espectro <i>FTIR</i> harina de residuos de camarón (HC)	37
Figura 4.2. Espectro de <i>FTIR</i> de quitosana mineralizada (QM)	37
Figura 4.3. Espectro <i>FTIR</i> de quitosana obtenida por método convencional (QNaOH)	37
Figura 4.4. Espectro <i>FTIR</i> de quitosana comercial Sigma Aldrich (QS)	37
Figura 4.5. Difractogramas de harina de camarón, de quitosana obtenida por método convencional (QNaOH), quitosana mineralizada (QM) y quitosana Sigma-Aldrich (QS)	39
Figura 4.6. Microscopía electrónica de barrido ( <i>SEM</i> , en inglés). a), b) Quitosana mineralizada a 100x y 5000x, respectivamente; c), d) Quitosana obtenida por método convencional a 100x y 5000x, respectivamente; e),	41

f) Quitosana Sigma Aldrich convencional a 100x y 5000x, respectivamente.

Figura 4.7.	Espectroscopía de energía dispersa ( <i>EDS</i> , en inglés). a), b) Espectros de quitosana mineralizada; c), d) Quitosana obtenida por método convencional; e), f) Quitosana Sigma Aldrich.	42
Figura 4.8.	Efecto de la saturación de las mezclas de plaguicidas con NaCl	44
Figura 4.9.	Efecto del tipo de disolvente en la elución de los analitos	45
Figura 4.10.	Efecto del volumen de disolvente	46
Figura 4.11.	Porcentaje de recuperación debida a la variación en la cantidad de adsorbente	47
Figura 4.12.	Comparación de la SPE con quitosana obtenida con el sistema CaCl <sub>2</sub> -MeOH-H <sub>2</sub> O y cartuchos comerciales ( <i>HLB</i> y <i>C<sub>18</sub></i> )	49
Figura A.4.1.	Preparación del sistema MeOH-H <sub>2</sub> O-CaCl <sub>2</sub>	56
Figura A.4.2.	Obtención del sistema MeOH-H <sub>2</sub> O-CaCl <sub>2</sub> (1 mol de metanol, 4 moles de agua y 1 mol de cloruro de calcio)	56
Figura A.4.3.	Residuos de camarón de la especie <i>Farfantepenaeus aztecus</i>	56
Figura A.4.4.	Preparación de los residuos lavados y secados a 110°C durante dos horas	56
Figura A.4.5.	Harina de camarón parcialmente desproteínizada	56
Figura A.4.6	Conversión de la harina de camarón a quitosana mineralizada	56
Figura A.4.7.	Filtración de la quitosana mineralizada	57
Figura A.4.8.	Obtención de quitosana mineralizada	57
Figura A.4.9.	Cartuchos para Extracción en fase sólida elaborados con quitosana mineralizada	57
Figura A.4.10.	Extracción en fase sólida de plaguicidas triazínicos con cartuchos comerciales <i>HLB</i> Y <i>C<sub>18</sub></i>	57
Figura A.4.11.	Sistema utilizado para la extracción en fase sólida de plaguicidas	57
Figura A.4.12.	Cromatógrafo de gases Agilent Technologies Series 7890 A con detector de ionización de flama (FID)	57
Figura A.5.1.	Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación	58

## ABREVIATURAS Y SIGLAS

AcET	Acetato de etilo
ACN	Acetonitrilo
AcTN	Acetona
ADN	Ácido desoxirribonucleico
<i>ANOVA</i>	Análisis de varianza por sus siglas en inglés, <i>analysis of variance</i>
<i>AOAC</i>	Asociación de Químicos Analíticos Estadounidenses por sus siglas en inglés, <i>Association of Official Analytical Chemists</i>
ARN	Ácido ribonucleico
<i>C<sub>18</sub></i>	Fase adsorbente de octadecilo ligado a sílice
C N H S	Carbono, Nitrógeno, Hidrógeno y Azufre
CONAPESCA	Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca
<i>DA</i>	Grado de acetilación por sus siglas en inglés, <i>degree of acetylation</i>
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno
<i>DD</i>	Grado de desacetilación por sus siglas en inglés, <i>degree of deacetylation</i>
<i>DLLME</i>	Microextracción líquido-líquido dispersa por sus siglas en inglés, <i>dispersed liquid-liquid microextraction</i>
DMA	N, N- dimetilacetamina
DQO	Demanda química de oxígeno
DRX	Difracción de Rayos X
<i>EDS</i>	Espectroscopía de energía dispersa o dispersión de energía de rayos X por sus siglas en inglés, <i>energy dispersive spectroscopy</i>
EFS	Extracción en fase sólida ( <i>SPE</i> por sus siglas en inglés: <i>solid phase extraction</i> )
<i>FID</i>	Detector de ionización de flama por sus siglas en inglés, <i>flame ionization detector</i>
<i>FTIR</i>	Espectroscopía infrarroja por sus siglas en inglés, <i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i>
HC	Harina de residuos de camarón
iPOH	Isopropanol

LD <sub>50</sub>	Dosis letal media por sus siglas en inglés, <i>lethal dose</i>
LLE	Extracción líquido-líquido por sus siglas en inglés, <i>liquid-liquid extraction</i>
LLSME	Microextracción líquido-líquido-sólido por sus siglas en inglés, <i>liquid-liquid- solid microextraction</i>
LPME	Microextracción en fase líquida por sus siglas en inglés, <i>liquid phase microextraction</i>
MEFS	Microextracción en fase sólida ( <i>SPME</i> por sus siglas en inglés: <i>solid phase microextraction</i> )
MeOH	Metanol
MIP	Polímero de impresión molecular por sus siglas en inglés, <i>molecularly imprinted polymers</i>
NP	Nanopartículas
OASIS HLB	Fase adsorbente de polidivinilbenceno-N-vinilpirrolidona
APS	Amina Primaria Secundaria, (PSA por sus siglas en inglés: Primary Secondary Amine)
QM	Quitosa mineralizada
QNaOH	Quitosa obtenida por método convencional
QS	Quitosa Sigma Aldrich
SADER	Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural
SBSE	Extracción por sorción con barras magnéticas agitadoras por sus siglas en inglés, <i>stir bar sorptive extraction</i>
SEM	Microscopía electrónica de barrido por sus siglas en inglés, <i>scanning electron microscopy</i>
SISTEMA MeOH-H <sub>2</sub> O-CaCl <sub>2</sub>	Disolvente elaborado con Metanol, Agua y Cloruro de calcio en proporciones 1:4:1, respectivamente MAC-141©
SST	Sólidos suspendidos totales

## RESUMEN

Este proyecto se enfocó en la extracción ecológica de quitina a partir de residuos de camarón café (*Farfantepenaeus aztecus*) y su conversión a quitosana mineralizada mediante el uso de una mezcla saturada de cloruro de calcio en metanol y agua (sistema  $\text{CaCl}_2\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ ), ultrasonido y agitación. En esta investigación, también se llevó a cabo la extracción, preconcentración y cuantificación de herbicidas triazínicos (metribuzina, prometrina y terbutilazina). Para ello, se aplicó la quitosana mineralizada como adsorbente en la técnica de preparación de muestras conocida como extracción en fase sólida. La cuantificación de los herbicidas se hizo por cromatografía de gases con detector de ionización de flama. Se evaluaron tres diferentes muestras de quitosana: muestra control Sigma Aldrich, quitosana mineralizada y quitosana obtenida por método convencional con NaOH concentrado. Las tres muestras se caracterizaron mediante análisis bromatológico, en el cual se determinó humedad, cenizas, proteínas y grasas. La caracterización química se complementó con el análisis elemental, espectroscopía infrarroja, difracción de rayos X y microscopía electrónica de barrido. El porcentaje de N-acetilación se determinó por medio de los espectros infrarrojos. Se evaluó la capacidad de extracción o porcentaje de recobro de la quitosana mineralizada analizando la influencia de la saturación de la matriz con NaCl, del disolvente de elución (tipo y volumen) y de la cantidad de adsorbente. Posteriormente, se comparó la capacidad de extracción de la quitosana mineralizada con las fases sólidas presentes en los cartuchos comerciales *C<sub>18</sub>* y *OASIS HLB*. El método de obtención de quitosana propuesto mostró eficiencia en la obtención de quitosana mineralizada, principalmente con carbonato de calcio. Este adsorbente podría presentar ventajas en términos económicos y ecológicos ya que proviene de un residuo de la industria alimentaria y puede considerarse como bioadsorbente.

**Palabras clave:** Residuos de camarón, quitosana mineralizada, caracterización, plaguicidas triazínicos

**Keywords:** *Shrimp residues, mineralized chitosan, characterization, triazine pesticides*

# CAPÍTULO 1

## PROBLEMÁTICA

### 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La generación de residuos orgánicos e inorgánicos es actualmente uno de los principales problemas relacionados con la degradación del ambiente (Akdogan *et al.*, 2013). Por esta razón, se busca el aprovechamiento de residuos con el fin de disminuir el impacto negativo en los ecosistemas. Los residuos de camarón son desechos de la industria pesquera, cuya composición es de aproximadamente 44.7% de proteínas, 26.3% de cenizas y 20.7% de otros carbohidratos (Cañipa-Morales, 1994). Debido a la cantidad de camarón que se descabeza en alta mar y en granjas camaroneras, la cantidad de estos residuos que se arrojan al mar son significativas (Flores-Ortega, 2004).

Este proyecto se enfoca en la extracción ecológica de quitina a partir de residuos de camarón y su conversión a quitosana mediante el uso de una mezcla saturada de cloruro de calcio en metanol y agua (sistema  $\text{CaCl}_2\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ ). Esta mezcla en proporciones de 1 mol de metanol, 4 moles de agua y 1 mol de cloruro de calcio ha sido empleado en la obtención de esponjas de quitina como sustituto del poliestireno (Ortega-Granados *et al.*, 2015) y en la fabricación de recubrimientos para alimentos (Quintero *et al.*, 2010).

La quitosana es un biopolímero de cadena lineal obtenido de residuos de crustáceos y se extrae a partir del biopolímero quitina. Se caracteriza por su alto contenido de nitrógeno, por ser renovable, biocompatible, bioadsorbente, biodegradable, biofuncional y no tóxico (Conislla-Bello *et al.*, 2016; Malafaya *et al.*, 2007).

Estas características hacen de la quitosana uno de los biopolímeros ampliamente utilizados en diferentes campos. En esta investigación se propone corroborar su capacidad adsorbente usando este material polimérico, como fase sólida, para elaborar los denominados “cartuchos de extracción” usados en la preparación de muestras acuosas para determinar y cuantificar

herbicidas triazínicos mediante la técnica de extracción en fase sólida (EFS, *SPE* por sus siglas en inglés).

La triazinas son plaguicidas pertenecientes al grupo de herbicidas utilizados para el control del crecimiento de malezas por lo que son aplicados directamente en el suelo (Gutiérrez, 2005; Morales *et al.*, 2014). Son fuertes inhibidores del transporte fotosintético de electrones y su selectividad depende de la habilidad de las plantas tolerantes para degradar o metabolizar el compuesto parental (las plantas susceptibles no lo hacen) (Morales *et al.*, 2014). En general, los herbicidas triazínicos son compuestos efectivos y económicos, adecuados para su aplicación en sistemas de producción con ganancias reducidas. Dicha característica ha generado el uso indiscriminado de estos herbicidas y, en consecuencia, ha ocurrido la contaminación del agua (Moawed *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2019).

En el agua, las triazinas generalmente se encuentran en concentraciones traza (Katsumata *et al.*, 2010), por lo que hoy en día las regulaciones ambientales son más estrictas en su determinación y cuantificación. Este inconveniente, dificulta la aplicación de la instrumentación analítica sin un paso previo de tratamiento de muestra que permita aislar del resto de la matriz los compuestos de interés y su preconcentración. Con estos tratamientos previos se favorece la resolución y eficiencia de los equipos analíticos empleados para cuantificar.

Si bien, la extracción en fase sólida, debido a su alta eficiencia en el proceso de preconcentración, es de las técnicas de preparación de muestras que más se utiliza con este propósito (Camel, 2003).

## 1.2. OBJETIVO GENERAL

Obtener quitosana mineralizada a partir de residuos de camarón

### **1.3. OBJETIVOS PARTICULARES**

- Obtener harina a partir de residuos de camarón de la especie *Farfantepenaeus aztecus*
- Aplicar el sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub>, ultrasonido y agitación en la obtención de quitosana mineralizada
- Comparar las propiedades químicas y físicas de la quitosana mineralizada con la quitosana Sigma-Aldrich y la quitosana obtenida por el método convencional con NaOH
- Diseñar un método analítico para la extracción y cuantificación de herbicidas triazínicos en muestras acuosas mediante extracción en fase sólida y cromatografía de gases con detector de fotoionización de flama

### **1.4. HIPÓTESIS**

A partir de residuos de camarón y sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub> se puede extraer quitosana mineralizada con propiedades químicas y físicas que permitan su aplicación como adsorbente para la extracción en fase sólida a nivel de laboratorio.

### **1.5. ALCANCES**

La presente investigación contempla la obtención de quitosana mineralizada mediante el aprovechamiento de los residuos de camarón (*Farfantepenaeus aztecus*). A su vez, se limita al diseño y optimización de un método analítico que permita emplear a la quitosana como medio de preconcentración de plaguicidas en la extracción en fase sólida. El proyecto se realiza a nivel de laboratorio con muestras acuosas cuya concentración de prometrina, metribuzina y terbutilazina es conocida con objeto de poder corroborar la bondad del material obtenido de los residuos como empaque de cartuchos para la preconcentración de analitos específicos.

## CAPÍTULO 2

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. INDUSTRIA CAMARONERA. GENERALIDADES DEL CAMARÓN CAFÉ (*Farfantepenaeus aztecus*)

La producción mundial de camarón de piscifactorías alcanzó casi 4 millones de toneladas en 2018 (FAO, 2019). En México la producción acuícola por especie se integra de la siguiente manera: 37% mojarra (tilapia), 36.1% camarón; 11.3% ostión; 7.6% carpa y 7.6% de otras especies (CONAPESCA, 2018).

La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) destaca que México ocupa el séptimo lugar como productor mundial de camarón, con una producción anual promedio de 221 mil 695 toneladas, de las cuales el 56.8 por ciento del crustáceo lo genera la acuicultura (CONAPESCA, 2018).

Los camarones (Figura 2.1) son los crustáceos de mayor interés económico, cuyo abdomen es la parte con utilidad comercial real. La cabeza o cefalotórax propiamente, en contraparte, actualmente carece de valor económico. El exoesqueleto que el caparazón, las patas, el telson y los urópodos tampoco son apreciados.

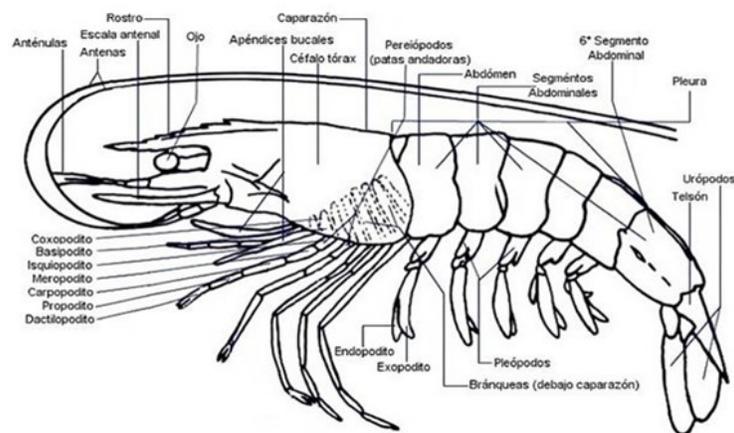


Figura 2.1. Anatomía del camarón (FAO, 2020)

El cefalotórax y exoesqueleto representan entre 30-48% de la masa<sup>2</sup> total (Chacón *et al.*, 2016). A nivel industrial los subproductos generados durante el aprovechamiento de este tipo de materiales excedentes de la industria camaronera proporcionan valor agregado, en donde destaca como posibilidad la generación de materiales molidos secos, conocidos en México como harinas, que son fuente de proteína cruda, pigmentos carotenoides (astaxantina), quitina y quitosana, entre otros (Tlelo-Bárcena, 2021).

Actualmente, el procesamiento de grandes cantidades de camarones, peces y otros organismos acuáticos producen enormes cantidades de subproductos y desechos. Aunque la tendencia reciente muestra que gran parte de estos desechos son susceptibles de convertirse en diversos productos de valor agregado, aún se descargan cantidades considerables a los cuerpos de agua o a los suelos (Sáez *et al.*, 2014).

Los informes sugieren que los desechos del procesamiento de camarón poseen: Alta demanda bioquímica de oxígeno (DBO), alta demanda química de oxígeno (DQO), cantidades importantes de sólidos suspendidos totales (SST), microorganismos patógenos, nutrientes, entre otros (FAO, 1994). Estos residuos son, por lo tanto, altamente propensos a producir efectos adversos en los ambientes costeros y marinos receptores (Islam *et al.*, 2004). Aunque es posible una reducción sustancial de las cantidades de desechos a través de la aplicación de técnicas simples disponibles, esto no se practica en la mayor parte del mundo debido a la falta de un enfoque administrativo y regulatorio adecuado.

Los camarones son crustáceos artrópodos mandibulados con apéndices articulados. Poseen dos pares de antenas, caparazón, branquias y diferentes estadios larvales (Catzín, 2009). Los camarones de la familia *Penaeidae* son considerados entre los más importantes a nivel mundial

---

<sup>2</sup> La masa es una propiedad de los cuerpos y se mide en kg. El peso es la fuerza de atracción de la gravedad sobre una masa dada y se mide en  $\text{kg m s}^{-2}$ , unidad conocida como Newton, N. Por tanto, masa y peso NO son sinónimos

por su valor comercial. Dentro de este grupo se encuentra el camarón café *Farfantepenaeus aztecus*. Es un invertebrado marino del Phylum *Arthropoda*.

Se distribuye en México desde la frontera con los Estados Unidos hasta la Sonda de Campeche. Sus principales áreas de captura son la zona norte de Tamaulipas, el sur de Veracruz y el área entre Frontera y Dos Bocas en Tabasco (Cuéllar y Cadena, 2006).

En general, el cefalotórax de camarón es una matriz formada de quitina, carbonato de calcio, proteínas, lípidos y pigmentos (Mohammed *et al.*, 2013). Las proteínas se encuentran unidas covalentemente a la quitina formando complejos estables. Hay dos tipos de proteínas que difieren en su solubilidad: Las artropodinas solubles en agua a alta temperatura y las esclerotidas insolubles (Muzzarelli, 1977).

Si bien, los cefalotórax y exoesqueletos de camarón fueron la primera materia prima para la obtención de la quitina, en la actualidad no se han utilizado extensamente. Durante los últimos años, una fracción limitada es procesada para ser utilizada como aditivo alimentario en comidas para camarones y otra fracción se emplea como materia prima para la producción de quitina (Rødde *et al.*, 2008).

En la Tabla 2.1 se muestra la composición porcentual de la harina de residuos de camarón cuya elaboración se basa en la trituración y secado de estos dos residuos, cefalotórax y exoesqueletos de camarón (Carranco *et al.*, 2011).

Tabla 2.1. Composición química de la harina de cefalotórax de camarón (Carranco *et al.*, 2011)

Componente (%)	Harina de camarón
Humedad	9.027 ± 0.01
Cenizas	29.86 ± 0.03
Proteína cruda	36.07 ± 0.26
Hidratos de carbono totales	24.15 ± 0.01
Calcio	4.58 ± 0.15

## 2.2. QUITINA Y QUITOSANA

La quitina es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa (Teli, 2012).

Se encuentra presente en las conchas de los crustáceos como el cangrejo, la langosta o el camarón y se presenta normalmente en la naturaleza como una combinación de proteínas, carbonato de calcio y otros compuestos orgánicos, lo que limita su proceso de aislamiento (Lavall *et al.*, 2006).

La quitosana es un polímero orgánico, bioadsorbente, biocompatible, biodegradable que existe también en la naturaleza, no es tóxico y es económico (Conislla-Bello *et al.*, 2016). La quitosana es un tipo de poliaminosacárido que tiene un grupo amino primario, dos grupos hidroxilo libres y un grupo acetamida cuando la desacetilación no es completa. Combinado con estas características, la quitosana puede proporcionar una alternativa prometedora y competitiva como adsorbente verde y de bajo costo para la adsorción de plaguicidas (Zhai *et al.*, 2018).

### 2.2.1. Propiedades fisicoquímicas de la quitina y quitosana

Químicamente, la quitina y la quitosana son poliglucosaminas (Figura 2.2). La quitina presenta un grado de desacetilación (*DD*, por su nombre en inglés, ver Glosario) menor al 60% y la quitosana mayor al 40% (El Knidri *et al.*, 2018; Rinaudo, 2008).

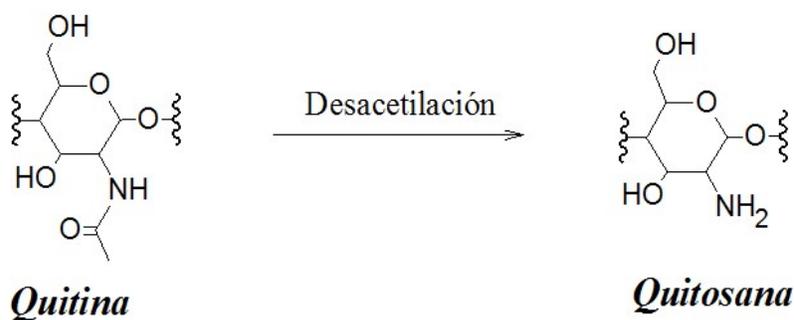


Figura 2.2. Estructura química de la quitina y la quitosana (Goodrich y Winter, 2007)

La quitina estructuralmente es un polisacárido lineal, que contiene unidades repetidas de  $\beta$ -(1-4)-2-deoxi-2-acetamido-D-glucopiranosas (Goodrich y Winter, 2007). La quitosana, es un

copolímero lineal formado por unidades D-glucosamina y, en menor medida, de N-acetil-D-glucosamina unidos por enlaces  $\beta$  1-4 (El Knidri *et al.*, 2018).

Las diversas funciones reportadas sobre la quitosana están relacionadas principalmente con la presencia de los grupos aminos libres en cada residuo monomérico de su molécula. Estas funciones se atribuyen a las tres formas estructurales fundamentales en que se puede encontrar la molécula: la forma cristalina hidratada, la cristalina no hidratada y la no cristalina o amorfa (Ogawa y Yui, 1993).

La presencia y abundancia de los grupos hidroxilos (primario en C-6 y secundario en C-3) y el grupo N-acetil o amino (en C-2) en las moléculas de quitina y quitosana, respectivamente, tienen tendencia a la formación de puentes de hidrógeno intra e intermoleculares que favorecen la formación de agregados lineales de alta cristalinidad (Prashanth y Tharanathan, 2007).

Las cadenas de quitina forman puentes de hidrógeno mediante los grupos  $-C=O$  y  $-N-H$  que, a su vez, forman puentes de hidrógeno con los anillos de glucosa vecinos entre el grupo carbonilo y el grupo hidroxilo del C-6. Existe otro puente de hidrógeno que se forma entre el grupo  $-OH$  del C-3 y el oxígeno del anillo, lo que aumenta la rigidez de la cadena manteniendo una estructura altamente ordenada (Minke y Blackwel, 1978; Pacheco, 2013).

La quitosana tiene una constante de acidez que oscila, dependiendo el grado de desacetilación, entre 6.2 y 7.0 (Navarro *et al.*, 2010). Esto hace que se encuentre protonada en soluciones ácidas, y esto la hace un adsorbente efectivo para iones negativamente cargados en solución a valores de pH menor que 6 (Navarro *et al.*, 2010).

A estas condiciones de pH las interacciones del proceso de adsorción ocurren por un mecanismo de intercambio aniónico (atracción electrostática). Además, a valores de pH neutro puede interactuar por medio de mecanismos de adsorción basados en puentes de hidrógeno o interacciones polares (Navarro *et al.*, 2010).

En la Tabla 2.2 se presentan algunas de las características de la quitina y de la quitosana (Barros *et al.*, 2015; Mármol *et al.*, 2004; Pacheco, 2013).

Tabla 2.2. Propiedades generales de la quitina y quitosana (Barros *et al.*, 2015; Mármol *et al.*, 2004; Pacheco, 2013)

Propiedad	Quitina	Quitosana
Masa molecular (g/mol)	$1 \times 10^6 - 2.5 \times 10^6$	$1 \times 10^5 - 5 \times 10^3$
Grado de acetilación	> 40	0-40
Viscosidad (cP) 1% en 1% ácido acético	No soluble	200 – 2000
Humedad (%p/p)	8- 10	6-7
Nitrógeno (%)	4.70	7.17
Cenizas (%)	0.09	0.07

### 2.2.2. Solubilidad

La quitina es un biopolímero insoluble en todos los disolventes orgánicos e inorgánicos comunes, como el agua, los ácidos, álcalis y disolventes orgánicos justamente para proteger al organismo del entorno. Esta propiedad se asocia a la fuerte red de enlaces de hidrógeno intra e intermolecular con la que cuenta. Para lograr la disolución de esta molécula es necesario introducir disolventes que induzcan las repulsiones entre las cadenas o desequilibren los puentes de hidrógeno presentes en el estado sólido (El Knidri *et al.*, 2018; Pacheco, 2013).

Entre los disolventes que logran la solubilidad de la quitina se encuentran los ácidos dicloro y tricloro acético, N,N-dimetilacetamida (DMA) con 5-8% de cloruro de litio (LiCl), tiocianato de litio, alcohol hexafluoroisopropílico, hexafluoracetona y N-metil-2-pirrolidona, etc. A pesar de su efectividad sobre la quitina, algunos de estos suelen ser tóxicos y corrosivos (El Knidri *et al.*, 2018; Ma *et al.*, 2011).

Por otro lado, la solubilización en la quitosana ocurre por protonación del  $-NH_2$  en la posición C-2. Durante la protonación, la quitosana se convierte en un polielectrolito en medios ácidos y por ello, es el único polímero catiónico pseudonatural (Rinaudo, 2006).

La quitosana es una molécula insoluble en agua y en la mayoría de los disolventes orgánicos, pero es soluble en la mayoría de las soluciones acuosas de ácido acético, cítrico, fórmico, láctico

y en otros disolventes como el dimetilsulfóxido, ácido *p*-toluenosulfónico y 10-ácido canforsulfónico (El Knidri *et al.*, 2018; Ma *et al.*, 2011; Mourya e Inambar, 2008).

En general, la solubilidad es un parámetro muy difícil de controlar debido a que se encuentra relacionado con el grado de acetilación (DA), la concentración iónica, el pH, la naturaleza del ácido utilizado para la protonación, el secado, las condiciones de secado y sobre todo la distribución de grupos acetilo a lo largo de la cadena (aleatorio o en bloque) (Aiba, 1991; Rinaudo, 2006).

### **2.2.3. Grado de n-acetilación**

El grado de N-acetilación corresponde al número de unidades de glucopiranos en la cadena del polímero que tiene el grupo N-acetil incorporado (Escobar *et al.*, 2013). Para la determinación del grado de acetilación se han reportado distintas técnicas, tales como la espectroscopía de infrarrojo, la espectroscopía de resonancia magnética nuclear, la espectroscopía UV, entre otras. Sin embargo, por su simplicidad, la espectroscopía infrarroja es el método más empleado en la determinación del grado de acetilación (Florencia, 2011). La técnica de espectroscopía de infrarrojo permite determinar el porcentaje de N-acetilación mediante la correlación de dos bandas de vibración, una tomada como testigo o referencia y otra tomada como prueba (Escobar *et al.*, 2013). Brugnerotto *et al.* (2001) propone una correlación lineal (Ecuación 1) que permite conocer el grado de acetilación y desacetilación de la quitosana por medio de la Ecuación 2 y 3, respectivamente.

$$\frac{A_M}{A_R} = (0.3822 + 0.03133) * N - acetilación (\%) \quad r = 0.99 \quad (1)$$

$$N - acetilación (\%) = 31.92 \left( \frac{A_M}{A_R} \right) - 12.20 \quad (2)$$

$$N - desacetilación (\%) = 100 - N - acetilación (\%) \quad (3)$$

Donde:  $A_M$  es la intensidad de la banda característica o de prueba y  $A_R$  es la intensidad de la banda de referencia.

$A_M$  es una medida del contenido de la banda correspondiente a la amida III, proporcional al N-acetilación y  $A_R$  es la intensidad de la banda de referencia correspondiente a los grupos metilo, independiente del N-acetilación, sirve como referencia interna.

### 2.2.4. Métodos de extracción de la quitosana

Generalmente, la extracción de quitosana se lleva a cabo mediante dos tipos de extracción (el método químico y el método biológico) y requiere de tres etapas principales: desmineralización, desproteínización y desacetilación. Al proceso puede agregarse la etapa de despigmentación con el fin de eliminar astaxantina y  $\beta$ -caroteno (Arancibia *et al.*, 2014; Kumari *et al.*, 2015). El método químico implica el uso de ácidos y bases fuertes para lograr la remoción de carbonatos y proteínas. El método biológico es una forma alternativa de extraer quitosana a partir de bacterias y proteasas productoras de ácido láctico (Arancibia *et al.*, 2014; Seghir y Benhamza, 2017). En la Tabla 2.3 se presentan algunas ventajas y desventajas de la extracción química y biológica de la quitosana.

Tabla 2.3. Métodos de extracción de la quitosana, ventajas y desventajas (Arbia *et al.*, 2013; Hamed *et al.*, 2016)

Extracción	Tratamiento	Ventajas y desventajas
Extracción química	<p><b>Desmineralización:</b> Tratamiento ácido (HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)</p> <p><b>Desproteínización:</b> Tratamiento alcalino (NaOH o KOH)</p> <p><b>Despigmentación:</b> Uso de acetona o disolventes orgánicos</p> <p><b>Desacetilación:</b> Tratamiento alcalino (NaOH o KOH)</p>	<p><b>Ventajas:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Corto tiempo de procesamiento</li> <li>-Alto %DD del producto final</li> <li>-Empleado a escala industrial</li> <li>-Eliminación completa de sales orgánicas</li> </ul> <p><b>Desventajas:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-No amigable con el ambiente</li> <li>-Los minerales y proteínas solubilizadas no pueden ser utilizados como nutrientes en humanos o animales</li> </ul>
Extracción Bioquímica	<p><b>Desmineralización:</b> Realizada por ácido láctico producido por bacterias</p> <p><b>Desproteínización:</b> Generado por proteasas</p> <p><b>Despigmentación:</b> Uso de acetona o disolventes orgánicos</p> <p><b>Desacetilación:</b> Quitina <i>desacetilasa</i> producida por bacterias</p>	<p><b>Ventajas:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Alta calidad del producto final</li> <li>-Ambientalmente seguro</li> <li>-Las proteínas y minerales eliminadas pueden ser empleadas como nutrientes</li> </ul> <p><b>Desventajas:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Largo tiempo de procesamiento</li> <li>-Limitado a estudios a escala de laboratorio</li> </ul>

### 2.3. Herbicidas triazínicos

Las triazinas son compuestos heterocíclicos ampliamente utilizados como herbicidas. Se emplean para el control de malezas principalmente en cultivos de papa, alfalfa, tomate, lentejas, caña de azúcar, sorgo, piña, plátano, café, uvas, entre otros (Zhou *et al.*, 2013). Por su naturaleza, estos compuestos son biológicamente activos y su efectividad radica en la capacidad de inhibir la fotosíntesis (Colla *et al.*, 2007; Garbellini *et al.*, 2007). El principal mecanismo para la disipación de triazinas es la degradación biológica. También pueden degradarse por oxidación, fotólisis y acción microbiana en suelos (Rhine *et al.*, 2003; Zablutowicz *et al.*, 2007).

La metribuzina, terbutilazina y prometrina (Figura 3) son ligeramente tóxicas por vía oral, con valores de LD<sub>50</sub> entre 1090-2300 mg/kg<sup>3</sup> para la metribuzina, de mayores a los 2000 mg/kg para la prometrina en estudios con ratas. Debido a su baja adsorción en el suelo y su alta solubilidad en el agua son consideradas contaminantes de las aguas superficiales y subterráneas (PPDB, 2019).

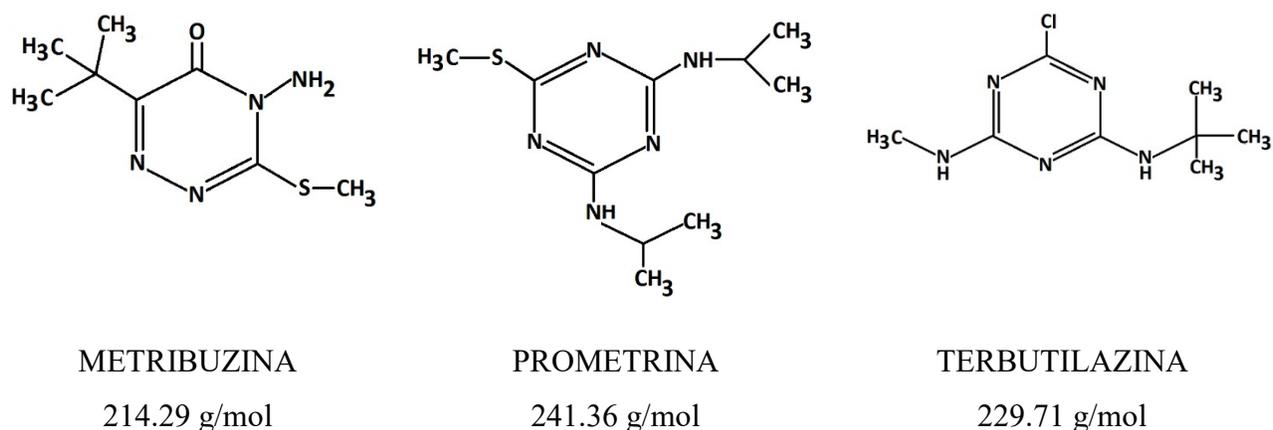


Figura 2.3. Estructura química de los herbicidas triazínicos evaluados (PPDB, 2019)

<sup>3</sup> Las abreviaturas de los prefijos para múltiplos de las unidades fueron modificados porque se privilegió su uso para unidades que vienen de nombres propios: K para Kelvin y k para kilo (nota de la asesora)

Los principales factores involucrados en la transferencia de plaguicidas<sup>4</sup> al agua subterránea son las propiedades del suelo (naturaleza, constituyentes orgánicos, minerales, pH y porosidad) y las propiedades del plaguicida (concentración, tiempo de aplicación y la frecuencia de uso) (Oukali-Haouchine *et al.*, 2013). La Tabla 2.4 muestra algunas propiedades fisicoquímicas de los plaguicidas estudiados en esta investigación.

Tabla 2.4. Propiedades fisicoquímicas de los plaguicidas estudiados (PPDB, 2019)

	<b>Metribuzina</b>	<b>Prometrina</b>	<b>Terbutilazina</b>
Fórmula química	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> OS	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> S	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>5</sub>
Masa molecular (g/mol)	214.29	241.36	229.71
Solubilidad en agua (mg/L) a 20°C	10700 (alta)	33 (baja)	6.6 (baja)
Solubilidad en solventes orgánicos en 20 °C (mg/L))	n-heptano (820) Xileno (60000) Acetato de etilo (250000) Acetona (449400)	Acetona (240000) Hexano (5500) Metanol (160000) Tolueno (170000)	Acetona (41000) Tolueno (9800) n-Octanol (12000) n-Hexano (410)
pK <sub>a</sub> a 25°C	1.3	4.1	1.9
Constante octanol-agua (K <sub>ow</sub> ) a pH=7, 20°C	5.62 X 10 <sup>01</sup> log <sup>5</sup> K <sub>OW</sub> = 1.75	2.19 X 10 <sup>03</sup> log K <sub>OW</sub> = 3.34	2.51 X 10 <sup>03</sup> log K <sub>OW</sub> = 3.4
Punto de fusión °C	125.3	119	175
Punto de ebullición °C	Se descompone antes de hervir	300	Se descompone antes de hervir
Biodegradabilidad general	No es fácilmente biodegradable	-----	No es fácilmente biodegradable
Tipo de bioplaguicida	Herbicida	Herbicida	Herbicida, microbiocida, alguicida

Obtenido de: PPDB: Pesticide Properties DataBase. © University of Hertfordshire. Última actualización del registro: jueves 30 de abril de 2020

<sup>4</sup> La palabra plaguicida viene de la palabra plaga y *pesticide* en inglés de la palabra *pest* también en inglés, por ello no es correcto llamar a los plaguicidas ‘pesticidas’, un barbarismo, La palabra peste tiene otro significado que nada tiene que ver con los plaguicidas en el contexto de esta investigación (nota de la asesora)

<sup>5</sup> Los logaritmos se abrevian: log para el que está en base 10 o común y ln para el logaritmo natural (nota de la asesora)

### 2.3.1. Metribuzina

La metribuzina (4-Amino-6-tert-butil-4,5-dihidro-3-metiltio-1,2,4-triazin-5-ona) es una triazina asimétrica desarrollada en 1971 por Bayer en Alemania (Sahoo *et al.*, 2014). Es usada universalmente en cultivos de trigo, papa, soja, tomate, espárragos, pimiento, café, maíz, guisantes, zanahoria y caña de azúcar. Puede destruir las malas hierbas como *Phalaris minor*, *Cynodon dactylon*, *Chenopodium album* y *Cyperus spp* (Celis *et al.*, 2007). La permanencia del ingrediente activo es de uno o dos meses en tierra y de aproximadamente siete días en agua (Šantrić *et al.*, 2019). La metribuzina es un disruptor endocrino que causa un efecto fisiológico anormal en animales. Si la metribuzina residual se enriquece en los seres vivos, puede producir toxicidad biológica (Sahoo *et al.*, 2014). De hecho, los riesgos de contaminación del agua subterránea por la metribuzina están vinculadas a su baja sorción en suelos y su alta solubilidad en agua (1.05 g/L a 20 °C) (Oukali-Haouchine *et al.*, 2013).

### 2.3.2. Prometrina

La prometrina (N2,N4-di-isopropil-6-metiltio-1,3,5-triazina-2,4-diamina) es un herbicida selectivo de las triazinas que ha sido ampliamente utilizado como un controlador pre o post emergencia de pastos y malezas de hoja ancha (Zhou *et al.*, 2013). Puede ser aplicada en cultivos como algodón, apio, arvejas, eneldo, papas, girasoles y zanahorias (PPDB, 2019). La vida media de la prometrina es de 1 a 3 meses en diferentes suelos, también es estable (12 a 18 meses) en campos que permanecen en uso durante muchos años (Guo *et al.*, 2013).

### 2.3.3. Terbutilazina

La terbutilazina (N2-tert-butil-6-cloro-N4-etil-1,3,5-triazina-2,4-diamina) es un herbicida para controlar el pasto y las malezas de hoja ancha en una variedad de situaciones, incluida la silvicultura y para controlar las algas, hongos y bacterias que forman limo en situaciones no agrícolas. Ejemplos de aplicaciones: maíz, sorgo, manzanas, enredaderas de arbusto, sitios sin cultivos, incluyendo carreteras, ferrocarriles y sitios industriales (PPDB, 2019).

### 2.3.4. Principales métodos de extracción de triazinas en soluciones acuosas

Los herbicidas triazínicos, al igual que otros contaminantes, se acumulan en una gran variedad de matrices en las que los niveles de concentración permitidos por las diferentes legislaciones son

cada vez menores. Para ello, es necesario seleccionar el método de extracción adecuado para cada tipo de muestra (Akdogan, 2013; Rodríguez, 2016). Actualmente, la preparación de muestras para el análisis cromatográfico es una de las etapas más críticas en el proceso analítico, pues se busca la implementación de técnicas eficaces, económicas y selectivas que permitan satisfacer los requisitos de sensibilidad, además de facilitar la limpieza de la matriz de las muestras (Benvenuto *et al.*, 2010; Rodríguez, 2016).

La extracción líquido-líquido (*ELL*, *LLE* por sus siglas en inglés), basada en la división de los analitos entre dos solventes no miscibles, es el método convencional de extracción de triazinas (Van Pinxteren *et al.*, 2009). Este método requiere de un disolvente extractante selectivo para extraer y concentrar un soluto (o analito de interés) presente a bajas concentraciones en una fase acuosa (Duperly *et al.*, 2005). La *ELL* es una técnica versátil, sin embargo, presenta inconvenientes como el elevado consumo de disolvente, el tiempo de extracción, la necesidad de una etapa de limpieza posterior para eliminar posibles interferencias y opciones limitadas de automatización (Retamal *et al.*, 2013; Rodríguez, 2016; Van Pinxteren *et al.*, 2009).

Por otra parte, la extracción en fase sólida (*EFS*, *SPE* por sus siglas en inglés) es la técnica más empleada como alternativa para la extracción líquido-líquido de triazinas en muestras acuosas (Fontanals *et al.*, 2007). La extracción en fase sólida permite la extracción y concentración de varios analitos de matrices complejas. Los analitos se retienen en un adsorbente, inmovilizado en un cartucho o columna, y se desorben (eluyen) con un disolvente en el que son solubles. El consumo de disolvente en la *EFS* es menor en comparación con la *ELL* (Katsumata *et al.*, 2010; Van Pinxteren *et al.*, 2009).

En los últimos años, con el fin de minimizar el consumo de disolventes orgánicos, de acuerdo con los principios de la Química Verde, se han desarrollado técnicas de microextracción para la determinación de herbicidas triazínicos en muestras de agua (Wu *et al.*, 2000). Las técnicas de microextracción requieren cantidades muy pequeñas de solvente (rango  $\mu\text{L}$ ) y muestra (rango  $\text{mL}$ ) y estas técnicas funcionan principalmente en modo de equilibrio dinámico (Van Pinxteren *et al.*, 2009).

La microextracción en fase sólida (*MEFS*, *SPME* por sus siglas en inglés) es, después de la EFS, la técnica más empleada en la extracción de triazinas. La EFS y MEFS son técnicas de sorción, por lo que la retención se debe a interacciones hidrofóbicas, polares e iónicas reversibles entre el analito y el material adsorbente. El tipo de adsorbente o revestimiento utilizado en EFS y MEFS, respectivamente, es responsable de la eficiencia del proceso de extracción (Fontanals *et al.*, 2007). La MEFS es una técnica que integra las etapas de muestreo, extracción, concentración e introducción de muestras en un solo paso (Mohammadi *et al.*, 2009). Entre las ventajas más relevantes de esta técnica se incluyen la simplicidad, rapidez, limpieza de muestra mejorada, análisis preciso y bajo consumo de solvente orgánico (sin solvente o minimizado con solvente) (Jalili *et al.*, 2020).

En general, la extracción de triazinas suele emplear otras técnicas como la microextracción en fase líquida (*MEFL*, *LPME* por sus siglas en inglés), la extracción por sorción con barras magnéticas agitadoras (*ESBMA*, *SBSE* por sus siglas en inglés), la microextracción líquido-líquido dispersiva (*MLLD*, *DLLME* por sus siglas en inglés), la microextracción líquido-líquido-sólido (*MLLS*, *LLSME* por sus siglas en inglés) (Bagheri *et al.*, 2010; Hu *et al.*, 2009a,b; Nagaraju *et al.*, 2007). Estas técnicas presentan ciertas ventajas sobre la *SPE*; sin embargo, también presentan inconvenientes pues algunas muestran baja sensibilidad para los analitos estudiados (Mohammadi *et al.*, 2009) o baja eficiencia de extracción (Wang *et al.*, 2010).

### 2.4. Extracción en fase sólida, EFS

La extracción en fase sólida es una técnica de preparación y tratamiento de muestras basada en la retención selectiva de los analitos en una fase adsorbente para su posterior elución con un disolvente adecuado (Viera-Santana y Santana-Rodríguez, 2015). Es un proceso físico en el que están implicadas una fase sólida (adsorbente) y una líquida (muestra). La fase sólida tiene mayor atracción por los analitos que el disolvente en el que se encuentran disueltos. Cuando la muestra pasa a través del lecho del adsorbente, los analitos quedan retenidos en la superficie, mientras que los otros componentes de la muestra no retenidos pasan a través de él sin generar interacciones (Viera-Santana y Santana-Rodríguez, 2015). La extracción en fase sólida es el procedimiento más utilizado en la limpieza de muestras con matrices complejas, extracción, fraccionamiento y

preconcentración de trazas de contaminantes del medio ambiente (Andrade *et al.*, 2016). Además, ofrece una serie de beneficios importantes: reduce el uso de solventes y exposición, disminuye los costos de eliminación y tiempo de extracción. LA EFS se puede automatizar, por lo tanto, es conveniente en la preparación de muestras a gran escala (Camel, 2003). En general, el procedimiento por EFS (Figura 2.4) consiste en colocar el adsorbente en una columna pequeña típicamente hecha de un material inerte como polipropileno o vidrio y pasar una solución que contiene el compuesto de interés a través de esta columna. El adsorbente de la columna se selecciona para retener compuestos específicos de interés. La columna puede contener desde 50 mg hasta 10 g de material adsorbente. Este material se coloca como pequeñas partículas en la columna entre dos discos permeables (conocidos coloquialmente como *frits*, por ejemplo, hechos de papel de filtro o polipropileno poroso), colocados de manera que el líquido pueda fluir libremente o con la aplicación de un pequeño diferencial de presión. El colector de vacío posee varios puertos y las columnas o cartuchos están conectadas al vacío a través de llaves de plástico (Moldoveanu, 2015).

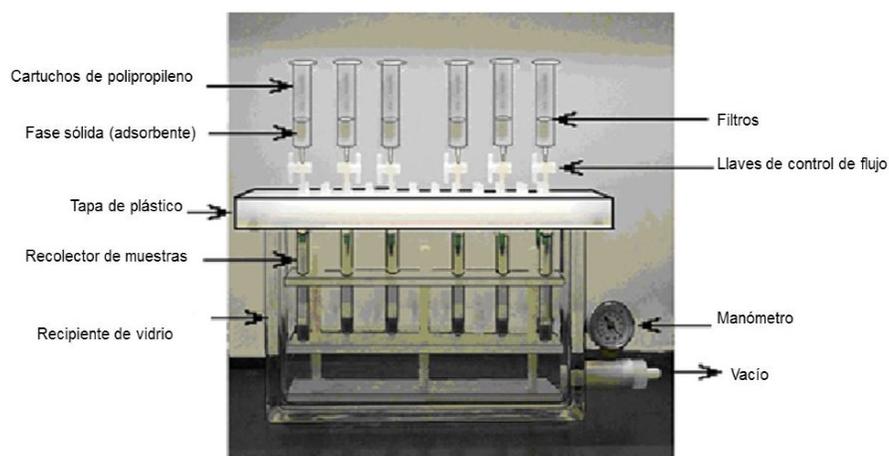


Figura 2.4. Colector de vacío con columnas de extracción en fase sólida (EFS), comúnmente utilizado para realizar operaciones de EFS (Modificada de Moldoveanu, 2015)

El acondicionamiento de las columnas se realiza generalmente con metanol o agua en volúmenes de 4 a 8 veces el lecho adsorbente. Después del acondicionamiento, la muestra se hace pasar por la columna, mientras que el recipiente del colector de vidrio se encuentra en condiciones de vacío débil (menos de aproximadamente 600 mmHg). La intensidad del vacío se ajusta (y puede ser

incluso cero) para permitir el flujo deseado. El efluente es recogido típicamente en viales de vidrio para ser analizados por técnicas como la cromatografía de gases (Moldoveanu, 2015).

El método EFS consta de cuatro etapas (Figura 2.5) (Camel, 2003):



Figura 2.5. Procedimiento típico de la extracción en fase sólida (Andrade *et al.*, 2016)

1. Acondicionamiento: Consiste en la preparación del adsorbente mediante el uso de un disolvente adecuado para procesar la muestra. Este paso permite la humectación de la fase sólida y la solvatación de los grupos funcionales. Adicionalmente, se eliminan posibles impurezas en el adsorbente o en el envase. También elimina el aire presente en la columna y llena el volumen vacío con disolvente. Se debe evitar que el adsorbente se seque entre las etapas de acondicionamiento y carga de la muestra ya que los analitos no serán retenidos eficientemente. Si el adsorbente se seca, debe ser reacondicionado.
2. Retención: El segundo paso es la filtración de la muestra a través del adsorbente. Dependiendo del sistema empleado, el volumen de las muestras puede variar entre 1 mL a 1 L. Durante este paso, los analitos son concentrados y retenidos en el adsorbente.
3. Lavado: Este paso es opcional y consiste en el lavado del adsorbente con un disolvente apropiado. El disolvente empleado debe tener una fuerza de elución baja con el fin de eliminar componentes indeseables retenidas en la matriz, sin desplazar los analitos. Se recomienda dejar secar, especialmente cuando se trabaja con matrices acuosas, esto facilitará la posterior concentración y cuantificación de los analitos.

4. Elución: El paso final consiste en la elución de los analitos de interés por un disolvente apropiado. La recuperación total de los analitos se logra con una baja dilución. Además, el caudal debe ajustarse correctamente para asegurar una eficiente extracción.

### 2.4.1. Adsorbentes usados en la extracción en fase sólida

Dentro de las características fundamentales que distinguen a un buen adsorbente están su alta porosidad, su gran superficie de contacto y que presente sitios específicos de adsorción. La mayoría de los adsorbentes que se han utilizado en el control de la contaminación tienen estructura porosa, lo que aumenta el área superficial y, en consecuencia, la velocidad de adsorción. Un buen adsorbente será aquel que presente área superficial suficientemente grande y que requiera menor tiempo para alcanzar el equilibrio de adsorción (Valladares *et al.*, 2016).

En la actualidad el desarrollo de nuevos materiales adsorbentes para la EFS han mejorado la selectividad y especificidad hacia los analitos ‘objetivo’, la capacidad de absorción y la estabilidad fisicoquímica y mecánica (Figura 2.6).

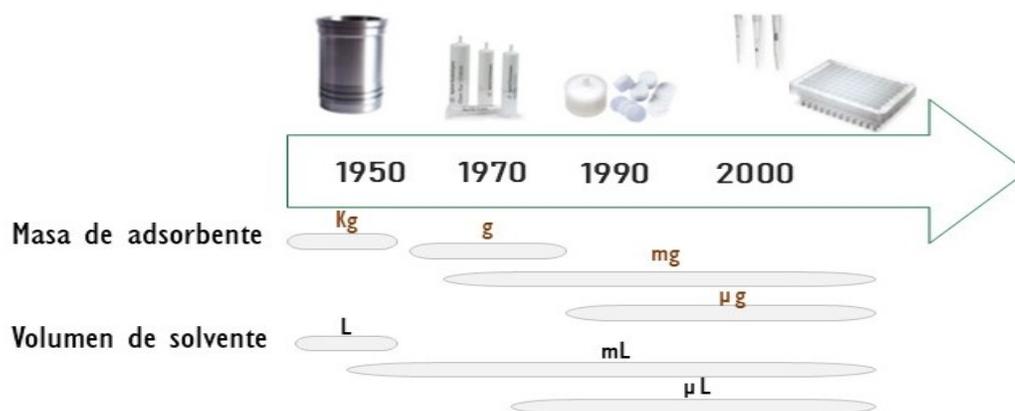


Figura 2.6. Evolución de los materiales para EFS (Płotka-Wasyłka *et al.*, 2016)

Los avances científicos en una nueva generación de adsorbentes como fase estacionaria se han incrementado en los últimos años, incluyendo: nanotubos de carbono y polímeros modificados con varios grupos funcionales. Debido a la gran variedad de adsorbentes disponibles, es posible la extracción selectiva de sustancias de interés (Płotka-Wasyłka *et al.*, 2016).

### 2.4.1.1. Adsorbentes convencionales

Se encuentran principalmente constituidos por carbono activado, alúmina activada, arenas y zeolitas. Estos adsorbentes son previamente tratados y, una vez utilizados, deben regenerarse para recuperar sus propiedades. Estos materiales actúan como adsorbentes porque pueden formar interacciones intermoleculares débiles con el analito (Valladares *et al.*, 2016).

### 2.4.1.2. Adsorbentes no convencionales

En general, los adsorbentes para la EFS se pueden dividir en tres categorías: óxidos inorgánicos, adsorbentes de baja especificidad y adsorbentes específicos de compuesto y de clase (Augusto *et al.*, 2013).

Debido a la naturaleza química de las interacciones analito-adsorbente de los óxidos inorgánicos, el desarrollo en esta clase de adsorbentes, por ejemplo, sílice, alúmina y florisil (silicato de magnesio) es bastante limitado (Płotka-Wasyłka *et al.*, 2016).

El segundo grupo de adsorbentes incluye sílice modificada superficialmente, así como materiales poliméricos porosos, tales como resinas de poliestireno-divinilbenceno y materiales a base de carbono. Entre ellos, la sílice de superficie modificada tiene la gama más amplia de aplicaciones. Sin embargo, también tienen varias limitaciones tales como una menor estabilidad en el caso de muestras acuosas con pH bajo o alto. Por lo tanto, el trabajo de investigación todavía se lleva a cabo y generalmente se centra en la búsqueda de materiales con estabilidad mejorada en condiciones difíciles y / o alta afinidad por los analitos polares (Augusto *et al.*, 2013).

El tercer grupo de adsorbentes se utiliza para problemas relacionados con el aislamiento de especies altamente polares o macromoléculas de muestras acuosas, llevando al uso de adsorbentes específicos para el tratamiento de muestras complejas (Płotka-Wasyłka *et al.*, 2016).

El desarrollo de nuevos adsorbentes para la EFS con alta selectividad/especificidad hacia un analito específico, así como adsorbentes que pueden aplicarse a una amplia gama de matrices y analitos es de gran importancia. La información sobre el desarrollo y la aplicación de nuevos adsorbentes para la EFS se resume en la Tabla 2.5.

Tabla 2.5. Ejemplos de algunos materiales adsorbentes empleados en la EFS (Plotka-Wasylyka et al., 2016)

Adsorbente	Analito	Matriz	Detección	Porcentaje de recuperación	Límite de detección
Grafeno, óxido de grafeno					
Óxido de grafeno	Herbicidas de ácido clorofenoxiacético	Río y agua de mar	CE	93.3–102.4	0.3–1.5 ng/L
Hojas de grafeno sulfonado	HAP	Agua de río	CG-EM	81.6–113.5	0.8–3.9 ng/L
Fullerenos					
C <sub>60</sub>	Compuestos organometálicos	Solución acuosa	CG-EM	-	5–15 ng/mL
C <sub>60</sub>	BTEX	Agua de mar o potable, tierra, desechos, lluvia, lago y ríos	CG-EM	94-104	0.04–0.05 µg/L
Nanotubos de carbono					
OMWCNT, OSWCNT	Plaguicidas órgano-fosforados	Agua de mar	CG-FID	79-102	0.07–0.12 µg/L
MWCNTs	Herbicidas de sulfonilurea	Suelo	HPLC-DAD	76–93	0.5–1.2 ng/g
MWCNTs	Atrazina y simazina	Agua	CG-EM	-	2.5–5.0 pg/mL
Nanoconos, nanodiscos, nanofibras y nanocuernos de carbono					
Nanoconos/discos de carbono	Clorofenoles	Agua	CG-EM	98.8–100.9	0.3–8 ng/mL
Nanofibras de carbono	Clorotriazina y metabolitos desalquilados	Suelo crudo, agua (grifo, pozo y arroyo)	CL-DAD	83.5–105	0.004–0.03 ng/mL
Nanofibras de carbono	Clorotriazina y metabolitos desalquilados	Suelo crudo, agua (grifo, pozo y arroyo)	CL-DAD	83.5–105	0.004–0.03 ng/mL
Electrohilado de nanofibras					
Nanofibra de carbono	Aminas aromáticas	Aguas residuales	HPLC-UV	70-108	0.009–0.081 µg/L
KIT-6 funcionalizado Dendrímero	Drogas ácidas	Orina	HPLC-UV	85.7–113.9	0.4–4.6 ng/mL
Nanopartículas magnéticas					
Criogel magnético	Ésteres de ftalato	Comida empaquetada	CG-FID	70-118	26.3–36.4 ng/mL
Inmunoadsorbentes					
Anticuerpo policlonal contra PA a CNBr activada por sepharose 4B	Feniletanol-amina A	Piensos, carne e hígado	HPLC-UV	89.48–104.89	48.7 ng/mL
Adsorbentes funcionalizados por aptámero					

Adsorbente	Analito	Matriz	Detección	Porcentaje de recuperación	Límite de detección
ssDNA antitetraciclina	Tetraciclina	Orina y plasma humanos	<i>ESI-IMS</i>	82,8–86,5%	0.019–0.037 µg/mL
Polímeros con iones impresos					
Adsorbente de gel de sílice funcionalizado con amino y Fe (III)	Fe (III)	Solución estándar	<i>ICP-AES</i>	> 95	0,34 µg/L
Polímeros de impresión molecular					
Monómero funcional: <i>PMAA</i> / $\text{SiO}_2$ injertador reticulado: <i>EGGE</i> Plantilla: creatinina	Creatinina	Solución estándar	Espectrofotómetro UV / Vis	-	-
Armazones metal orgánicos					
<i>MIL-101</i>	Plaguicidas organoclorados	Muestras de agua	<i>GC-MS</i>	87.6–98.6	0.0025 / 0.016 ng/mL

*CE*, electroforesis capilar; *CG*, cromatografía de gases; *EM*, espectrometría de masas; *HAP*, hidrocarburos aromáticos policíclicos; *BTEX*, benceno, tolueno, etilbenceno y xileno; *OMWCNT*, nanotubos de carbono oxidados de paredes múltiples; *OSWCNT*, nanotubos de carbono oxidados de pared simple; *MWCNT*, nanotubos de carbono de paredes múltiples; *ESI-IMS*, espectrometría de movilidad de ionización por ionización por electropulverización; *ICP-AES*, espectrometría de emisión atómica de plasma acoplada inductivamente; *EGGE*, etilenglicol diglicidil éter; *MIL*, *Material Institut Lavoisier* (casi todos los acrónimos por sus siglas en inglés)

Se han introducido nuevos nanomateriales con propiedades únicas para su uso en EFS, además de los adsorbentes no selectivos tradicionales.

Las nanopartículas (NP) se utilizan ampliamente en varios campos de la ciencia, incluida la química analítica. Debido a su comportamiento único, basado en el tamaño de partícula a escala nanométrica, así como su utilidad en la miniaturización, las NP son adsorbentes ideales para la EFS. Las nanoestructuras se pueden aplicar como adsorbentes en dos configuraciones:

- Materiales modificados basados en micropartículas unidas químicamente (principalmente por un enlace covalente).
- Directamente utilizado como materia prima.

Las principales ventajas de las nanopartículas son los procedimientos de derivatización fáciles, alta relación superficie-volumen y propiedades térmicas, mecánicas y electrónicas únicas. Los productos más importantes de este grupo son los nanomateriales adsorbentes a base de carbono y las nanofibras electrohiladas (Valcarcel *et al.*, 2008).

Sin embargo, debido a su área superficial, tamaño de partícula y procesos de síntesis son considerados como contaminantes. Por eso, el enfoque actual, en términos de desarrollo de adsorbentes, se centra en la propuesta de materiales biodegradables y económicos como fases sólidas (Pacheco-Fernández *et al.*, 2020)

### 2.4.1.3. Bioadsorbentes

El uso de bioadsorbentes para la preparación de muestras mejora los protocolos analíticos y cumple con varios de los 12 principios de la Química analítica verde (Armenta *et al.*, 2019) como:

- Eliminar el uso de sustancias peligrosas durante la producción de los adsorbentes
- Minimizar la cantidad de residuos peligrosos
- Garantizar procedimientos más seguros para la prevención de accidentes durante la fabricación de los adsorbentes: debido a la naturaleza de los materiales de partida utilizados, que no son tóxicos, ni corrosivos ni explosivos, por lo tanto no existe un riesgo importante para los usuarios
- Aplicación de materiales fácilmente degradables después de su uso
- Aplicación de materias primas renovables

Los bioadsorbentes se han utilizado principalmente para la remoción de iones metálicos y contaminantes orgánicos en muestras de agua. La selectividad de extracción de muchos bioadsorbentes se puede ajustar fácilmente haciendo que sus grupos funcionales nativos se apliquen en una amplia gama de estrategias de extracción.

Los biopolímeros son materiales poliméricos hechos de unidades monoméricas unidas covalentemente y se clasifican de acuerdo con las fuentes de donde se obtienen, ya sea recursos

renovables u organismos vivos. A diferencia de los polímeros sintéticos, los biopolímeros tienen estructuras complejas y bien definidas. Según el tipo de unidad de monómero y la estructura del biopolímero formado, se pueden dividir en tres categorías principales (Hokkane *et al.*, 2016):

- Poliglúcidos, constituidos por unidades de glucosa u otro glúcido<sup>6</sup> unidas entre sí
- Polinucleótidos, que están formados por una unidad monomérica llamada nucleótido, que se replica para crear polímeros de cadena más larga que constituyen ADN y ARN
- Polipéptidos, que son polímeros orgánicos lineales hechos de aminoácidos

Entre estos polímeros, los poliglúcidos se usan comúnmente como materiales de adsorción para la preparación de muestras debido a su estructura química distintiva y propiedades características como: bajo costo, ecología, biodegradabilidad y no toxicidad, que difieren en gran medida de los polímeros sintéticos (Hokkane *et al.*, 2016). Según la literatura, los polisacáridos de uso común para la síntesis de material adsorbente son celulosa, quitina, lignina y suberina. En aplicaciones como material adsorbente, la celulosa se puede usar en su forma pura. Recientemente, los materiales celulósicos han visto un uso sustancial en la química analítica como un adsorbente para la EFS (c-EFS), disco-EFS, EFS dispersiva (d-EFS), EFS magnética y polímero de impresión molecular (MIP-EFS) (Godage y Gionfriddo, 2020).

Otro biopolímero comúnmente utilizado para la extracción es la quitina, estructuralmente similar a la celulosa, excepto por el grupo acetil amina en la posición C-2 en su estructura monomérica. Este grupo amino en el esqueleto polimérico proporciona propiedades estructurales y químicas únicas. Como se mencionó anteriormente, las principales fuentes de quitina son las conchas de los crustáceos, como los cangrejos y los camarones y las paredes celulares de los hongos (Martínez *et al.*, 2010). Este biopolímero se puede convertir en quitosana por desacetilación. Además, ambos son biocompatibles, biodegradables y no tóxicos. Estas características hacen que

---

<sup>6</sup> Como ocurre con la masa y el peso, las palabras azúcar o sacarosa científicamente han sido abusivamente utilizadas. Los glúcidos son aquellos compuestos derivados de la glucosa y, en todo caso así deberían llamarse o simplemente hidratos de carbono o con el anglicismo carbohidratos ya que la propia azúcar es un glúcido (nota de la asesora)

la quitina y la quitosana sean materiales absorbentes verdes ideales para la preparación de muestras en protocolos analíticos (Godage y Gionfriddo, 2020). La Tabla 2.6 muestra algunos ejemplos de la aplicación de algunos bioadsorbentes.

Tabla 2.6. Ejemplos de la aplicación de bioadsorbentes para el análisis de compuestos (Godage et al., 2020)

Técnicas de preconcentración	Biomaterial	Matriz	Analitos	Instrumento de detección	Límite de detección
c-SPE	Celulosa (Residuos de celulosa)	Agua subterránea	Ag <sup>+</sup>	FAAS	1.74 ng mL <sup>-1</sup>
Disco-SPE	Celulosa (esteras de nanofibra de celulosa)	Muestras de agua, cabello, orina y peces	Cd <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup>	AAS	1.0–5.2 µg L <sup>-1</sup>
SPME	Nanocompuesto de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> y quitosana	Agua de río	La <sup>3+</sup>	ICP-OES	0.008 ng L <sup>-1</sup>
Columna llena	Gel de sílice modificado con quitosana	Agua de río agua de lago agua de pozo	Cd <sup>2+</sup> Cu <sup>2+</sup>	FAAS	20 ngL <sup>-1</sup> a 38 ng L <sup>-1</sup>
C-SPE	Cáscara de arroz	Agua corriente / agua superficial	FQs	UHPLC-MS/MS	25–33 ng L <sup>-1</sup>
SPME	Corcho	Agua de río	Plaguicidas organoclorados	GC-ECD	0.3–3 ng L <sup>-1</sup>

*C-SPE*, cartucho; *FAAS*, espectroscopía de absorción atómica de llama; *AAS*, espectroscopía de absorción atómica; *SPME*, microextracción en fase sólida; *ICP-OES*, espectroscopía de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente; *FQs*, antibióticos de fluoroquinolona; *UHPLC*, cromatografía líquida de ultra alto rendimiento; *MS*, espectrometría de masas; *GC-EDC*, detector de captura de electrones por cromatografía de gases (todos los acrónimos por sus siglas en inglés)

A continuación, se presenta la metodología seguida en esta investigación.

## CAPÍTULO 3

### DESARROLLO EXPERIMENTAL

La Figura 3.1 muestra un diagrama general de la metodología empleada para la obtención de quitosana mineralizada a partir de residuos de camarón y su aplicación como adsorbente para la extracción en fase sólida.

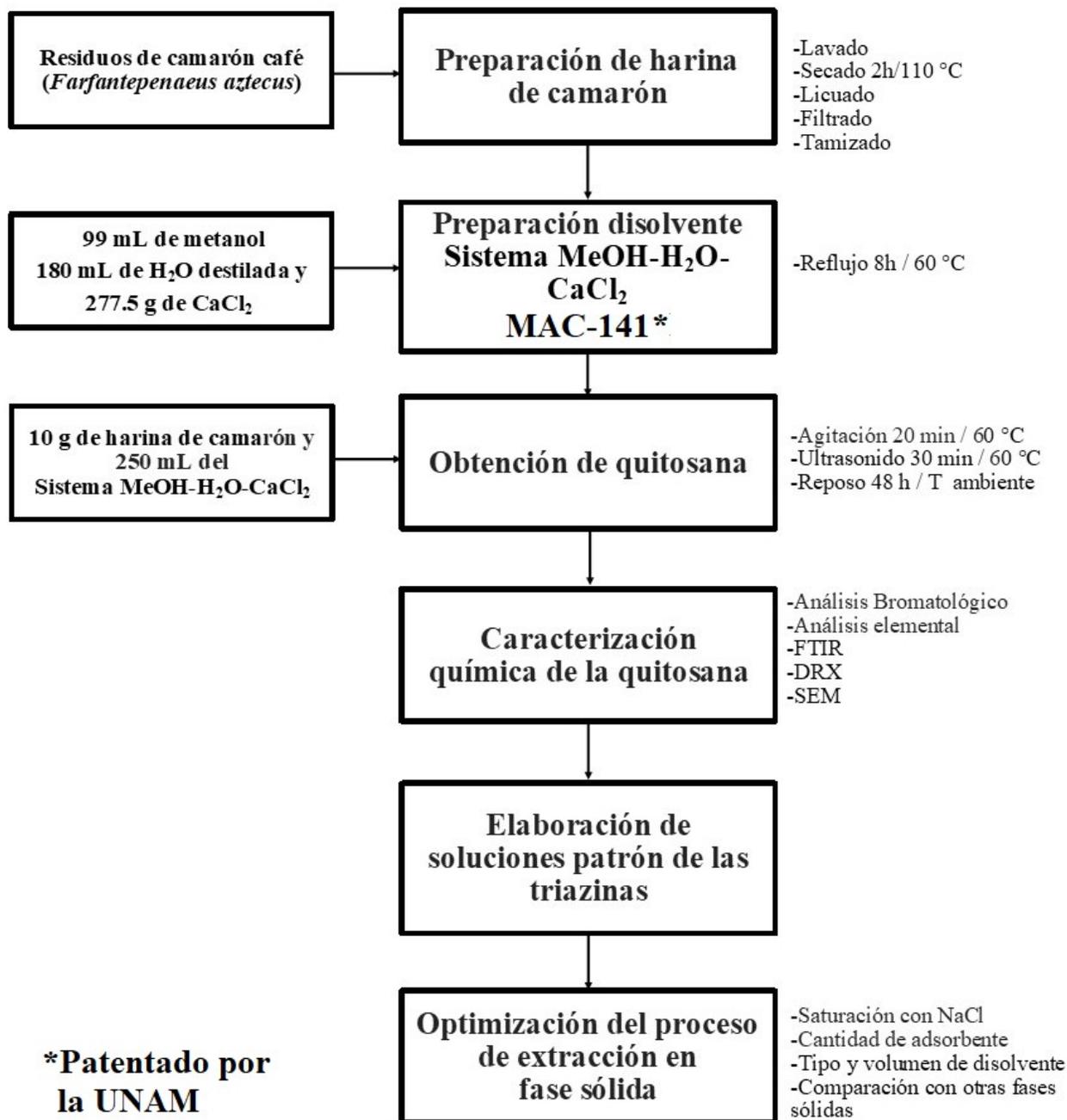


Figura 3.1. Diagrama del proceso experimental realizado

### 3.1. Extracción de quitosana a partir de residuos de camarón

#### 3.1.1. Elaboración de harina de camarón

Se emplearon residuos de camarón como materia prima para la producción de quitosana mineralizada. Los residuos fueron lavados y secados a 110°C durante 2 h. Posteriormente, se licuaron con agua destilada en relación 1:2 (1 de agua: 2 de harina), lo que permitió obtener un compuesto parcialmente desproteínizado. Concluida la molienda, se filtró y secó el extracto a 60°C durante 18 horas. Finalmente, se realizó un tamizado del polvo obtenido, conocido coloquialmente como harina ( $\mu\text{m} < 149$ ), para garantizar una mayor área superficial de las partículas para la extracción y separación de sus diferentes componentes y se conservó a 4°C para su posterior utilización.

#### 3.1.2. Preparación del sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub>

La preparación del sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub> se realizó de acuerdo con Flores-Ortega (2008). Se pesaron en un matraz 277.5 g de CaCl<sub>2</sub>, 180 mL de agua (en un baño de hielo, debido a que se trata de una reacción exotérmica) y 99 mL de metanol. La mezcla se colocó en un sistema de reflujo durante 8 h a una temperatura inferior a 60°C, para evitar la evaporación del metanol. Concluido el tiempo se dejó reposar la mezcla por 24 h a temperatura ambiente (en los laboratorios la temperatura es 20±2°C (máximo en el verano y mínimo en el invierno)). Finalizado el tiempo de reposo, se decantó el disolvente y se guardó en un recipiente de vidrio hermético. Este disolvente y el procedimiento en su conjunto se patentaron en 2004 por parte de la UNAM conociéndose el disolvente por las iniciales de los reactivos M, por metanol, A, por agua y C por calcio, como disolvente MAC. Como las proporciones adicionadas originalmente se consideraron en forma molar y son 1:4:1, por ello se le conoce como MAC-141© (Flores-Ortega *et al.*, 2004). La patente quedará disponible en 2024 para su uso libre.

#### 3.1.3. Obtención de quitosana mediante el sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub>

Para la obtención de quitosana mineralizada se mezclaron 10 g de harina de camarón y se adicionaron 250 mL del sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub>. La mezcla se agitó por 20 min a 60°C. Posteriormente, se llevó a un baño ultrasónico por 30 min a 60°C. Se dejó en reposo 48 h a

temperatura ambiente, se filtró y el precipitado se lavó con agua destilada hasta obtener un polvo blanquecino. La quitosana se secó en horno por 5 h a 100°C.

### 3.1.4. Obtención de quitosana por el método químico convencional

El método químico convencional para la obtención de quitosana requirió el uso de soluciones concentradas de HCl y NaOH. Este método se llevó a cabo en tres etapas principales (Cañipa-Morales, 1994):

1. *Desmineralización*: Tratamiento obtenido a partir de una mezcla de harina de camarón y HCl al 4% en una proporción 1:15, respectivamente. La mezcla permaneció en reposo durante 24 h a temperatura ambiente. Concluido el tiempo de reposo, la mezcla se neutralizó con NaOH 10%, se filtró y se lavó con agua destilada.

2. *Desproteínización*: Tratamiento alcalino con NaOH al 10%. Se elaboró una mezcla de harina de camarón con la solución de NaOH en una proporción de 1:15, respectivamente. La mezcla se mantuvo en contacto durante 2 h a 70°C. Concluido el tiempo de reposo, la mezcla se neutralizó con HCl al 4%, se filtró y se lavó con agua.

3. *Desacetilación*: Tratamiento llevado a cabo con quitina en NaOH al 40-50% en una proporción de 1:10, respectivamente. La desacetilación se efectuó a 100°C durante 12 h. Posteriormente, se realizó la neutralización de la mezcla con HCl al 4%, se filtró y se lavó con agua destilada a 90°C. El secado del compuesto final fue a 50°C por 16 h.

### 3.1.5. Caracterización química de la quitosana

Se efectuó la caracterización química de la harina de camarón, quitosana mineralizada, quitosana comercial Sigma-Aldrich y de la quitosana obtenida por el método convencional mediante análisis bromatológico. Se empleó la metodología descrita por la AOAC para la determinación de humedad, cenizas, proteínas y grasas (Horwitz, 2005; Nielsen, 2009; Nollet, 2004). La caracterización se complementó con un análisis elemental (contenido total CNHS), espectroscopía infrarroja (*FTIR*), difracción de Rayos X (*DRX*) y microscopía electrónica de barrido (*SEM*) realizadas también para la quitosana comercial usada como control.

### 3.2. Elaboración de soluciones patrón de plaguicidas

Se elaboraron tres soluciones patrón a una concentración de 500 mg/L (500 ppm), una para cada plaguicida analizado (metribuzina, prometrina y terbutilazina). Se prepararon 200 mL de cada solución (0.1 g en 200 mL de acetonitrilo). La solución se envasó en un recipiente ámbar y se almacenó a una temperatura de -22°C.

### 3.3. Condiciones de la cromatografía de gases

Previo a la cuantificación de los analitos eluidos se obtuvieron las condiciones óptimas de operación del cromatógrafo de gases *Agilent 7890 A*. Se empleó una solución a 200 µg/L de la mezcla de plaguicidas evaluada a diferentes temperaturas y tiempos. Las condiciones óptimas de operación se muestran en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1. Condiciones de operación del cromatograma de gases con detector de ionización de flama (FID, por sus siglas en inglés) *Agilent 7890 A*

INYECTOR	HORNO	DETECTOR
Inyección: <i>Splitless</i> (sin división)	Columna: DB-5	Temperatura: 280°C
Condiciones	Flujo de He: 1.127 mL/ min	Frecuencia:
Temperatura: 280°C	Presión: 101.863 kPa (14.774 psi)	50 Hz /0.004 min
Presión: 101.863 kPa (14.774 psi)	Programa de temperatura	Relación de gases
Volumen de inyección: 1 µL	1)80°C 1 min	H <sub>2</sub> : 35 mL/min
	2)220°C 1 min	Aire:350 mL/min
	3)250°C 1 min	He ( <i>make up</i> ): 35 mL/min

### 3.4. Extracción en fase sólida de plaguicidas triazínicos

#### 3.4.1. Elaboración de las disoluciones de plaguicidas: metribuzina, prometrina y terbutilazina

Se prepararon disoluciones en un rango de concentraciones entre 10 y 200 ppm disueltos en 50 mL de agua desionizada, saturada con NaCl (20%). Las disoluciones se derivaron de una disolución estándar de 50 mg/L de los plaguicidas en acetonitrilo.

### 3.4.2. Preparación de cartuchos

Se utilizaron columnas para EFS de polipropileno y con pinzas se colocó un filtro en la parte inferior del cartucho (Figura 3.2). Posteriormente se introdujo una cantidad conocida en mg de quitosana mineralizada y finalmente se agregó un filtro presionando para compactar el adsorbente.



Figura 3.2. Material utilizado en la EFS a) Quitosana obtenida con el sistema  $\text{MeOH-H}_2\text{O-CaCl}_2$ , filtros comerciales y cartuchos de extracción y b) Cartuchos con quitosana obtenida con el sistema  $\text{MeOH-H}_2\text{O-CaCl}_2$  como adsorbente

### 3.4.3. Proceso de extracción en fase sólida con quitosana mineralizada como adsorbente

#### 1. Acondicionamiento

Se agregaron 7 mL de n-hexano al cartucho de extracción y se dejó en contacto durante 5 min. Después de este tiempo, se abrió la llave de regulación y con vacío se dejó pasar el disolvente (sin dejar secar). Posteriormente, se agregaron 7 mL de mezcla acetona:metanol (50:50 v/v) y se realizó el mismo procedimiento.

#### 2. Carga de la muestra (Extracción de los plaguicidas)

Se conectaron las mangueras a los frascos de vidrio que contenían la mezcla de plaguicidas y del otro extremo se conectó en los cartuchos, se dejó abierto el vacío y se reguló el flujo del líquido en goteo hasta pasar todo el volumen de muestra (Figura 3.3).

#### 3. Enjuague

Se agregaron en el cartucho 4 mL de n-hexano, de forma rápida y con vacío.

### 4. Secado

Se secaron los cartuchos en una centrifuga Eppendorf 5810R a 3500 rpm durante 20 min.

### 5. Elución

Se agregaron 4 mL de acetona y se dejó en contacto 2 min. Después de este tiempo se abrió la llave y el contenido se recolectó en un vial. Posteriormente, se agregaron 2 mL de metanol y se repitió el mismo procedimiento recolectando las fracciones en un mismo vial.



*Figura 3.3. Sistema utilizado para la extracción en fase sólida*

### **3.4.4. Optimización del proceso de extracción en fase sólida de la metribuzina, prometrina y terbutilazina**

#### **3.4.4.1. Efecto de la saturación de la matriz**

Se prepararon tres disoluciones de 50 mL de mezcla de plaguicidas a una concentración de 50  $\mu\text{g/L}$  de agua desionizada. Se emplearon tres variaciones de saturación con NaCl: i) sin saturar, ii) saturación al 20% y iii) saturación al 40%. El proceso de extracción se sigue como en el punto 3.4.3. Se utilizaron columnas para EFS de polipropileno que contenían 500 mg de quitosana.

#### **3.4.4.2. Efecto del disolvente de elución (tipo y volumen)**

Se prepararon cinco disoluciones de 50 mL con una concentración de 50  $\mu\text{g/L}$  en agua desionizada saturada al 40% con NaCl, a partir de una disolución estándar de los plaguicidas en acetonitrilo. Se utilizaron cinco columnas para EFS de polipropileno que contenían 500 mg de

quitosana mineralizada y finalmente se agregó un filtro presionando para compactar el adsorbente.

Se realizaron diferencias en la elución y los tiempos de extracción. En cada uno de los cinco cartuchos se agregaron 2 mL de diferentes disolventes, cada uno por separado: Acetonitrilo (ACN), metanol (MeOH), acetato de etilo (AcET), isopropanol (iPrOH) y acetona (AcTN) dejando en contacto 2 min. Después de este tiempo se abrió la llave y el contenido se recolectó en un vial. Así se fueron agregando 2 mL de cada disolvente y repitiendo el mismo procedimiento de recolección de las fracciones en viales distintos hasta obtener un volumen final de 10 mL.

### 3.4.4.3. Efecto de la cantidad de adsorbente

Se prepararon seis disoluciones de mezcla de plaguicidas (50 mL a 50 µg/L) en agua desionizada saturadas al 40 % con NaCl. Las disoluciones se prepararon a partir de una solución estándar de los plaguicidas en acetonitrilo. Se utilizaron seis columnas para EFS que contenían quitosana mineralizada en diferentes proporciones 100, 200, 300, 400, 500 y 600 mg. El proceso de extracción se sigue como en el punto 3.4.3.

### 3.4.4.4. Comparación de la quitosana mineralizada con los cartuchos comerciales *C<sub>18</sub>* y *OASIS HLB*

Se utilizaron cartuchos comerciales de la marca *HLB Oasis*® y *C<sub>18</sub> CHROMABOND*®. Los cartuchos elaborados con quitosana mineralizada se prepararon como en los puntos 3.4.2. El proceso de extracción, para los cartuchos comerciales y los elaborados con quitosana mineralizada, se sigue como en el punto 3.4.3.

## 3.5. Análisis estadísticos de los datos experimentales

Se realizó un análisis estadístico de los datos experimentales mediante análisis de varianza (ANDEVA, *ANOVA* por sus siglas en inglés) con un 95% de confianza considerando valores de F, hipótesis nulas, etc., corroborando la existencia de diferencias significativas (Anexo A.1).

## CAPÍTULO 4

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Caracterización química

##### 4.1.1. Análisis bromatológico y análisis elemental

El análisis composicional de la harina de camarón (Tabla 4.1) y de la quitosana mineralizada obtenida indicó que el porcentaje de humedad de ambas muestras fue menor al 8%. Este porcentaje de humedad es bajo y favorece que ambos compuestos no sean susceptibles a contaminación microbiológica y, en consecuencia, para el caso de la harina de camarón, esta pueda ser utilizada como materia prima para la obtención de quitosana con el sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub>.

Para el caso de la quitosana mineralizada, el porcentaje de humedad indicó que el método de secado fue adecuado y permitió la obtención de un polvo blanquecino, seco y con bajo contenido de agua.

La humedad para la quitosana obtenida por el método convencional (tratamiento alcalino) y la quitosana Sigma-Aldrich presentó el mismo patrón descrito con anterioridad (contenido de humedad menor al 8%). Por lo tanto, todas las muestras se pueden aplicar como adsorbentes en la EFS debido a que el contenido de agua es bajo y no afectaría la retención de los analitos.

El resultado correspondiente al porcentaje de ceniza (Tabla 4.1) está influenciado por la presencia de impurezas de tipo mineral, como el calcio, contenido en sales de CaCO<sub>3</sub> o incluso la presencia de contaminantes metálicos (Hernández *et al.*, 2009). En la Tabla 4.1 se aprecia que la harina presentó menor cantidad de compuestos inorgánicos ( $28.88 \pm 0.80\%$ ) en comparación con la quitosana mineralizada ( $32.47 \pm 1.59\%$ ). Esta diferencia se debe a que en el proceso para extraer la quitosana mineralizada con el sistema CaCl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O, el calcio contenido en el disolvente puede quedar como remanente del producto final.

## Resultados y discusión

La quitosana Sigma-Aldrich presentó menor contenido de minerales ( $0.89 \pm 0.01\%$ ) en comparación con las demás muestras analizadas, quitosana obtenida por el método convencional ( $4.95 \pm 0.03\%$ ) y quitosana mineralizada ( $32.47 \pm 1.59\%$ ). Esta característica hace referencia al grado de pureza y también al hecho de que, al aplicar tratamientos más drásticos de ácidos y bases fuertes, el contenido de compuestos inorgánicos disminuye. El valor obtenido experimentalmente de la quitosana mineralizada fue superior respecto a la muestra comercial, por lo tanto, el resultado depende, en gran medida del origen, propiedades y condiciones de obtención de la quitosana.

Los resultados para la cantidad de materia grasa obtenidos por el método de Soxhlet (Tabla 4.1) mostraron que durante el tratamiento de licuado en la obtención de harina se favoreció la eliminación de lípidos, debido a que los residuos se molieron en fresco y no después de un proceso de secado (Singer y Wooten, 2003). El porcentaje de grasa disminuyó para la quitosana y esto puede deberse al uso del sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub> en combinación con el ultrasonido.

Tabla 4.1. Análisis bromatológico de harina de camarón y diversas muestras de quitosana

Componente (%)	Muestras			
	Harina de camarón	Quitosana Mineralizada	Quitosana (Método convencional)	Quitosana comercial (Sigma Aldrich)
Humedad	$7.48 \pm 0.04$	$2.79 \pm 0.08$	$7.32 \pm 0.65$	$6.43 \pm 0.19$
Cenizas	$28.88 \pm 0.80$	$32.47 \pm 1.59$	$4.95 \pm 0.03$	$0.89 \pm 0.01$
Lípidos	$0.57 \pm 0.02$	$0.27 \pm 0.04$	-	-
Proteínas	$5.32 \pm 0.09$	$5.49 \pm 0.03$	-	$7.24 \pm 0.01$

\*Los resultados reportados son el promedio de tres mediciones experimentales

- No determinados<sup>7</sup>

El contenido de nitrógeno de la harina de camarón analizada por el método de Kjeldahl tuvo valores de  $5.32 \pm 0.09\%$ . Al comparar dicho valor con el obtenido por el análisis elemental (Tabla 4.2) se observó que los valores fueron similares. Este análisis es importante debido a que es un indicativo de la efectividad de los tratamientos que se le realizan a la harina para su posterior

<sup>7</sup> Estos análisis ya no pudieron realizarse por el cierre de las instalaciones de la UNAM el viernes 20 de marzo de 2020

## Resultados y discusión

conversión a quitosana. Es importante destacar que la cantidad de nitrógeno fue mayor en la quitosana mineralizada en comparación con la harina de camarón. Esto se debe al proceso de desacetilación de la quitina presente en la harina de camarón para convertirse en quitosana. Por otro lado, la cantidad de nitrógeno en la quitosana mineralizada fue menor que en la quitosana Sigma-Aldrich debido a que el porcentaje de desacetilación es mayor, al igual que el grado de purificación. Esto, a su vez, tuvo implicaciones en el incremento del contenido de nitrógeno (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Determinación de C-H-N-S por análisis elemental para la harina de camarón y diversas muestras de quitosana

Componente (%)	Muestras			
	Harina de camarón	Quitosana mineralizada	Quitosana (Método convencional)	Quitosana comercial (Sigma Aldrich)
Carbono	26.10 ± 0.06	27.43 ± 0.01	39.38 ± 0.02	39.16 ± 2.67
Hidrogeno	4.13 ± 0.02	4.05 ± 0.00	6.86 ± 0.00	6.99 ± 0.19
Nitrógeno	4.83 ± 0.00	5.21 ± 0.00	7.60 ± 0.00	7.22 ± 0.07
Azufre	0.08 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.21 ± 0.06

Para la quitosana comercial el contenido de nitrógeno fue de  $7.60 \pm 0.00\%$  (Tabla 4.2). La literatura indica que cuando este valor es mayor a  $8.69\%$  se debe a la presencia de proteínas, pero si es menor, se debe a la presencia de materiales inorgánicos (Kaya *et al.*, 2015). La comparación de este valor con el de la quitosana mineralizada ( $5.21 \pm 0.00\%$ ) muestra que el contenido de proteínas disminuyó después del tratamiento con el disolvente y la aplicación de ultrasonido. Por lo tanto, se obtuvo un compuesto completamente desproteinizado y parcialmente desacetilado. Esto indicó que en el sólido obtenido hay material inorgánico. Para el caso de la quitosana obtenida por método convencional se reportan valores menores a  $8.69$  con  $7.60 \pm 0.00\%$  de nitrógeno, lo que indica que se realizó una adecuada desproteinización y desacetilación de la muestra.

### 4.1.2. Espectroscopía infrarroja (FTIR, en inglés)

La Figura 4.1 muestra los principales grupos funcionales de la harina de camarón. El espectro de infrarrojo mostró que la harina de camarón presentó picos de absorción correspondientes al enlace -C-O-C a  $1014 \text{ cm}^{-1}$ , -C=O del grupo amida primaria a  $1630 \text{ cm}^{-1}$ , la amida secundaria a

1561  $\text{cm}^{-1}$  y el grupo amida terciaria a 1381  $\text{cm}^{-1}$ . Esto indicó la presencia de un alto contenido de compuestos nitrogenados (Hernández *et al.*, 2009). Por otro lado, la banda del grupo -NH a 3269  $\text{cm}^{-1}$  tuvo mejor definición que la banda del grupo -OH a 3440  $\text{cm}^{-1}$ .

La quitosana mineralizada (Figura 4.2) presentó mayor definición del grupo -OH a 3440  $\text{cm}^{-1}$  y del grupo -NH<sub>2</sub> a 1621  $\text{cm}^{-1}$  en comparación con la harina de camarón, en donde las bandas fueron menos definidas. El grado de desacetilación de la quitosana está asociado con el progresivo debilitamiento de las bandas correspondientes a los grupos -NH (3269  $\text{cm}^{-1}$ ), los enlaces -N-H de la amida secundaria (1561  $\text{cm}^{-1}$ ), la banda de la amida terciaria (1381  $\text{cm}^{-1}$ ) y los enlaces -C=O de la amida primaria (1630  $\text{cm}^{-1}$ ). La banda de absorción del grupo amida primaria prevalece sobre los grupos de amida secundaria debido a la pérdida del grupo acetilo de los grupos acetamida del carbono 2, dando lugar a un grupo amino en esa posición. Es importante mencionar que el incremento de la intensidad de las bandas cercanas a 1600  $\text{cm}^{-1}$  se debe a la presencia de minerales (Gaviría *et al.*, 20005) provenientes de la aplicación del sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub>.

La banda 3392  $\text{cm}^{-1}$  con estiramiento asimétrico de -CH<sub>2</sub> (en el grupo CH<sub>2</sub>OH) se encuentra menos pronunciada en la quitosana Sigma- Aldrich (Figura 4.4) en comparación con la quitosana mineralizada. Esto indica que el compuesto obtenido se encuentra parcialmente desacetilado (menos que la quitosana comercial) y que existe un porcentaje de quitina sin desacetilar.

La Figura 4.3 muestra los grupos funcionales de la quitosana obtenida por método convencional. Se observa un incremento en la definición de las bandas de los grupos -OH, -NH y -NH<sub>2</sub>. Además, el procedimiento permitió eliminar las interferencias de las bandas pertenecientes a los minerales en un rango de 1000-1700  $\text{cm}^{-1}$ . En el espectro infrarrojo de la quitosana Sigma- Aldrich (Figura 4.4) se observan las bandas de los grupos funcionales característicos de la molécula de quitosana. La banda del grupo amino corresponde a 1650  $\text{cm}^{-1}$ , las bandas de los grupos -OH a 3434  $\text{cm}^{-1}$  y -N-H a 3269  $\text{cm}^{-1}$ , las bandas de grupo -C-H a 2898  $\text{cm}^{-1}$ , el grupo piranósico en 1070  $\text{cm}^{-1}$ , y el grupo -C-O-C a 1014  $\text{cm}^{-1}$ .

Este comportamiento es similar al que presentó la quitosana obtenida por el método convencional (Figura 4.3).

El pico a  $1650\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al estiramiento  $\text{-C=O}$  en la amida se muestra con mejor definición en la quitosana Sigma Aldrich. Sin embargo, en la quitosana obtenida con el sistema  $\text{CaCl}_2\text{-MeOH-H}_2\text{O}$  se observó un comportamiento similar y un desplazamiento de la señal. Esto puede atribuirse a la unión del calcio con la quitosana. El calcio forma un complejo soluble con los polímeros, a través del grupo carbonilo, rompiendo los puentes de hidrógeno intermoleculares (Cárdenas *et al.*, 2004). El pico de absorción a  $1550\text{ cm}^{-1}$  en la harina de camarón (Figura 10) desapareció y el correspondiente al  $\text{-C=O}$  disminuyó en intensidad, lo que puso en evidencia que el proceso de desacetilación se llevó a cabo con el sistema  $\text{CaCl}_2\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ .

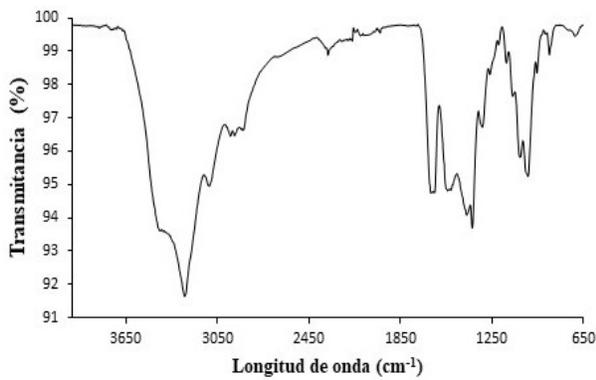


Figura 4.1. Espectro FTIR harina de camarón (HC)

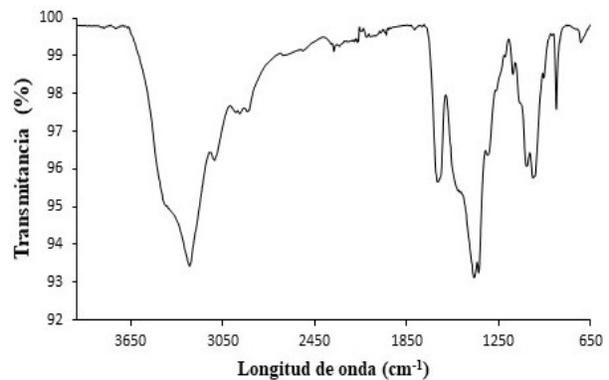


Figura 4.2. Espectro de FTIR de quitosana mineralizada (QM)

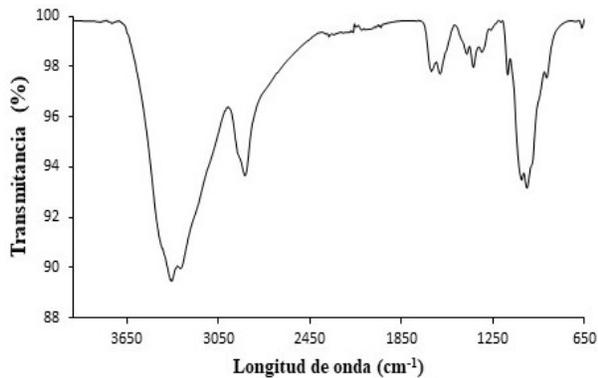


Figura 4.3. Espectro FTIR de quitosana obtenida por método convencional (QNaOH)

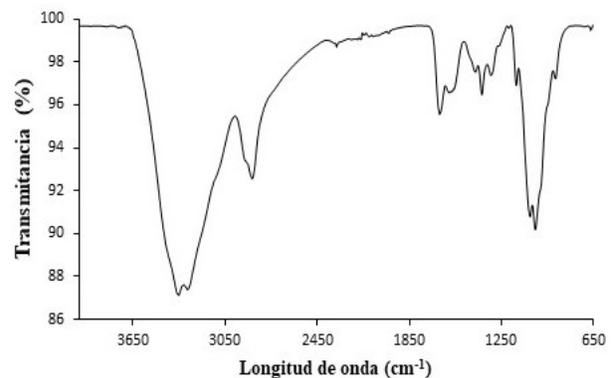


Figura 4.4. Espectro FTIR de quitosana comercial Sigma Aldrich (QS)

**4.1.3. Grado de n-acetilación**

La Tabla 4.3 muestra los porcentajes de N-acetilación (Ecuación 2) y N-desacetilación (Ecuación 3) de los tres tipos de quitosana evaluadas. Las muestras presentan porcentajes máximos y mínimos de N-desacetilación de 80.61% para la quitosana Sigma Aldrich y 80.22% para la quitosana mineralizada.

Tabla 4.3. Determinación del grado de N-acetilación y N-desacetilación de las muestras de quitosana evaluada

Muestras	Grado de N-acetilación (%)	Grado de N-desacetilación (%)
Quitosana mineralizada	19.78	80.22
Quitosana método convencional	19.55	80.45
Quitosana (Sigma Aldrich)	19.39	80.61

De acuerdo con los resultados obtenidos, se logró extraer quitosana (mineralizada y obtenida por método convencional) con un porcentaje de N-desacetilación superior al 40%. Además, las quitosanas extraídas presentan porcentajes de N-desacetilación y N-acetilación similares a la muestra control Sigma Aldrich (El Knidri *et al.*, 2018; Escobar y Vergara, 2013; Hernández *et al.*, 2009). Es importante señalar que el porcentaje de acetilación calculado por FTIR depende de las bandas de adsorción seleccionadas como la banda analítica y de referencia, por lo que este valor puede variar usando otro método reportado.

**4.1.4. Análisis de difracción de rayos X (DRX)**

El patrón de difracción de rayos X (Figura 4.5) mostró para la harina picos cristalinos característicos de quitina en  $2\theta = 9.1-9.2^\circ$ ,  $2\theta = 19.2- 19.3^\circ$  y en  $2\theta = 30^\circ$  atribuida a carbonato de calcio (Gaviría *et al.*, 2005). También se observaron picos con menor intensidad atribuidos a otros minerales y proteínas (Monter *et al.*, 2016). Estos picos se vuelven más agudos y disminuyen su intensidad al aplicar el tratamiento de ultrasonido con el sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub>. El patrón de difracción de la quitosana mineralizada mostró picos cristalinos característicos de quitosana en  $2\theta = 10^\circ$  y  $2\theta = 20^\circ$  e impurezas en  $2\theta = 30^\circ$  atribuida a carbonato de calcio, además de presentar una serie de picos en  $2\theta = 35-60^\circ$ , estos se deben a la presencia de minerales remanentes.

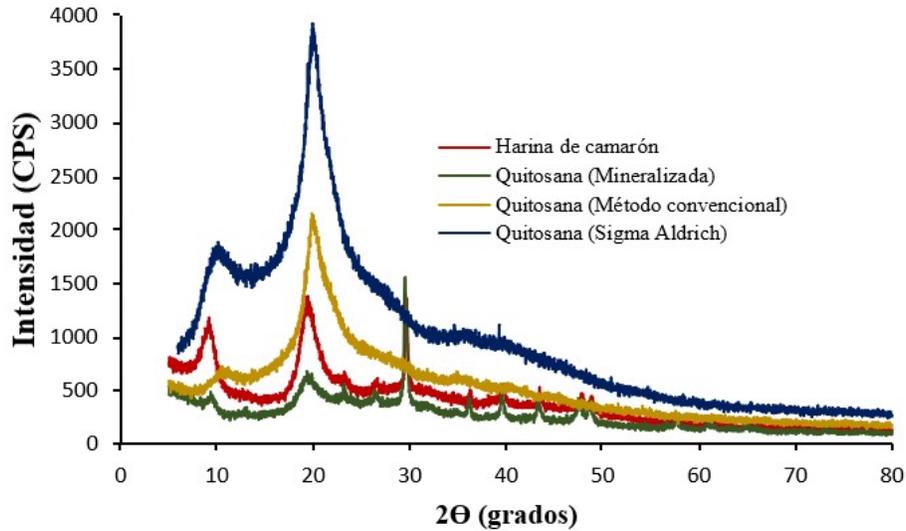


Figura 4.5. Diffractogramas de harina de camarón, de la quitosana obtenida por método convencional (QNaOH), quitosana mineralizada (QM) y quitosana Sigma-Aldrich (QS)

La comparación de los patrones de difracción de rayos X (Figura 4.5) de la quitosana Sigma-Aldrich con la quitosana mineralizada, muestran picos característicos en  $2\theta=20^\circ$  de mayor intensidad que el  $2\theta=10^\circ$ , ambos son congruentes con los reportados para la quitosana en otras investigaciones (Yen *et al.*, 2009). La intensidad de los picos de la quitosana mineralizada muestra la cristalinidad del biopolímero obtenido (Escobar *et al.*, 2013). Los picos en  $2\theta=30^\circ$  hasta  $50^\circ$  corresponden a la presencia de minerales provenientes de la aplicación del sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub>.

El patrón de difracción (Figura 4.5) de la quitosana mineralizada mostró en  $2\theta=30^\circ$  un pico definido debido a la presencia de calcio y otros picos con menor intensidad atribuidos a otros minerales. A pesar de esto, los picos característicos de la quitosana en  $2\theta=10^\circ$  y  $2\theta=20^\circ$  son apreciables en la muestra.

La quitosana Sigma-Aldrich presentó un patrón de difracción similar al de la quitosana obtenida por método convencional (QNaOH). Esto se atribuye al incremento en el porcentaje de desacetilación de la QNaOH, además de poseer los picos característicos en  $2\theta=10^\circ$  y en  $2\theta=20^\circ$ . El método convencional permitió obtener quitosana con mayor grado de pureza debido a la

eliminación de proteínas y minerales con los procesos de desproteinización y desmineralización, respectivamente.

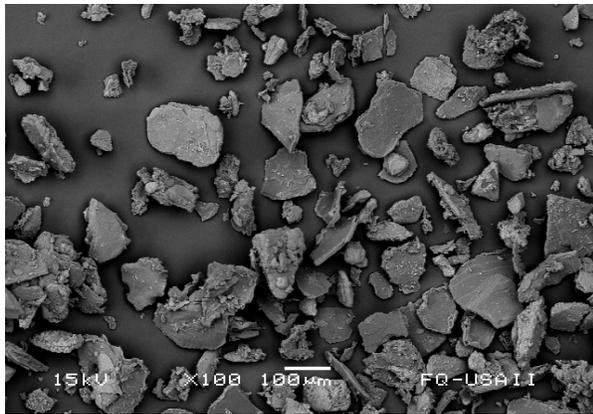
### **4.1.5. Microscopia electrónica de barrido (*SEM, en inglés*) y Espectroscopía de energía dispersa (*EDS, en inglés*)**

La Figura 4.6 muestra las micrografías electrónicas de barrido de los tres tipos de quitosana evaluadas a magnitudes de 100x y 5000x. Las Figuras 4.6a y b corresponden a las micrografías de la quitosana mineralizada. A una magnitud de 100x, la Figura 4.6a mostró formas de tamaño y distribución irregular con superficies ligeramente lisas. La Figura 4.6b, por su parte, se observó una superficie rugosa y globular con incrustaciones o aglomerados de partículas amorfas. De igual manera, se observaron poros irregulares en toda la superficie. Dichas aglomeraciones presentes en la estructura están asociadas al carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) residual obtenido al emplear el sistema  $\text{MeOH-H}_2\text{O-CaCl}_2$ .

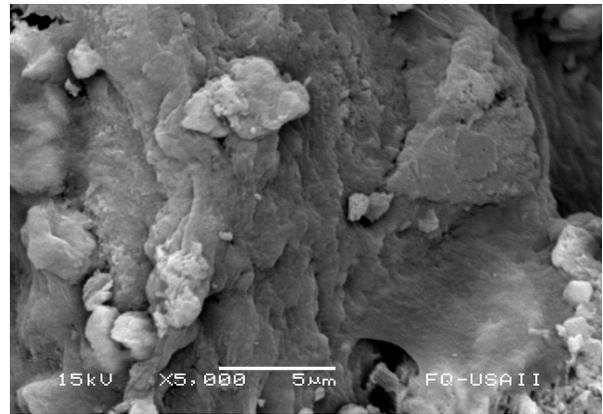
La quitosana elaborada por el método convencional presentó, a una magnitud de 100x (Figura 4.6c), partículas de tamaño y forma irregular con una superficie en su mayoría lisa o semicristalina. La quitosana de la Figura 4.6d tuvo una estructura rugosa, agrietada y microfibrilar con partículas porosas de diferentes tamaños.

La Figura 4.6e, correspondiente a la quitosana Sigma Aldrich, mostró una estructura heterogénea con aglomeración de partículas irregulares. La Figura 4.6f mostró una superficie microfibrilar, áspera y semi uniforme con copos amorfos incrustados de manera aleatoria en toda la superficie estudiada.

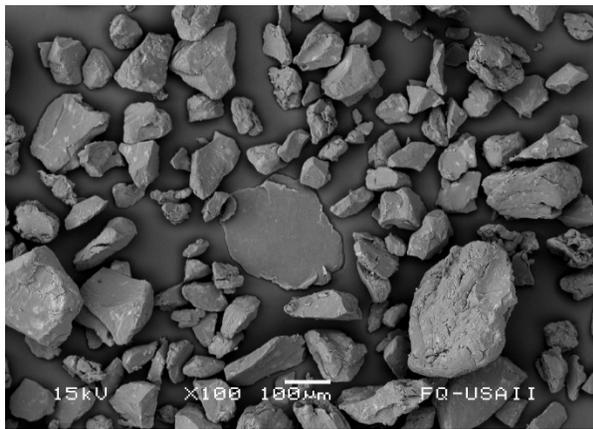
La Figura 4.7 muestra los análisis elementales de espectroscopía de energía dispersa de las muestras de quitosana analizadas obtenidas de los espectros de rayos X producidos por el barrido de electrones en lugares puntuales de las micrografías.



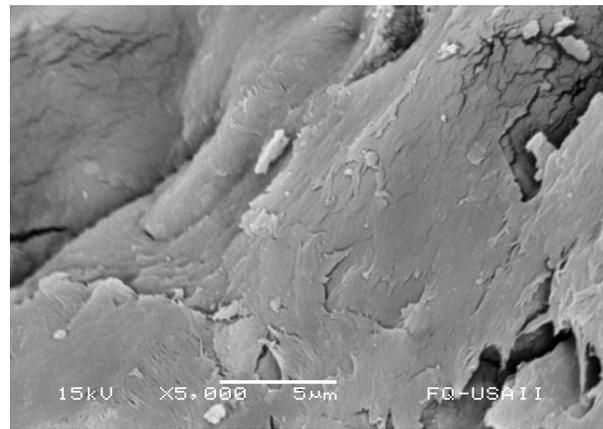
a)



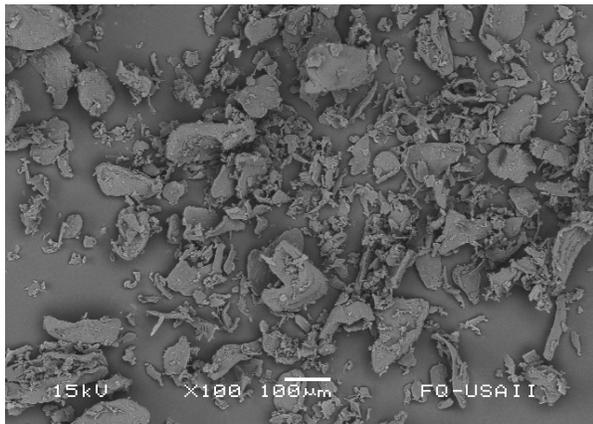
b)



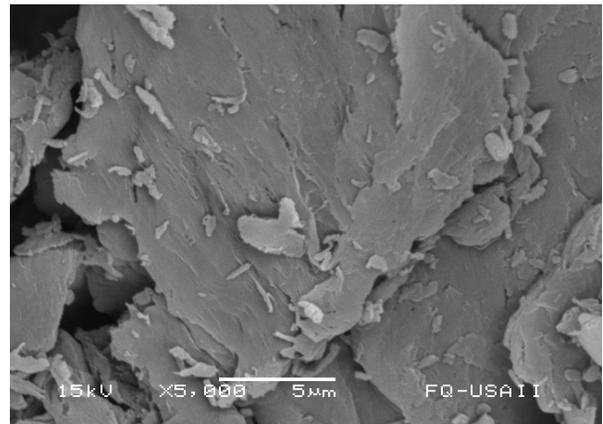
c)



d)

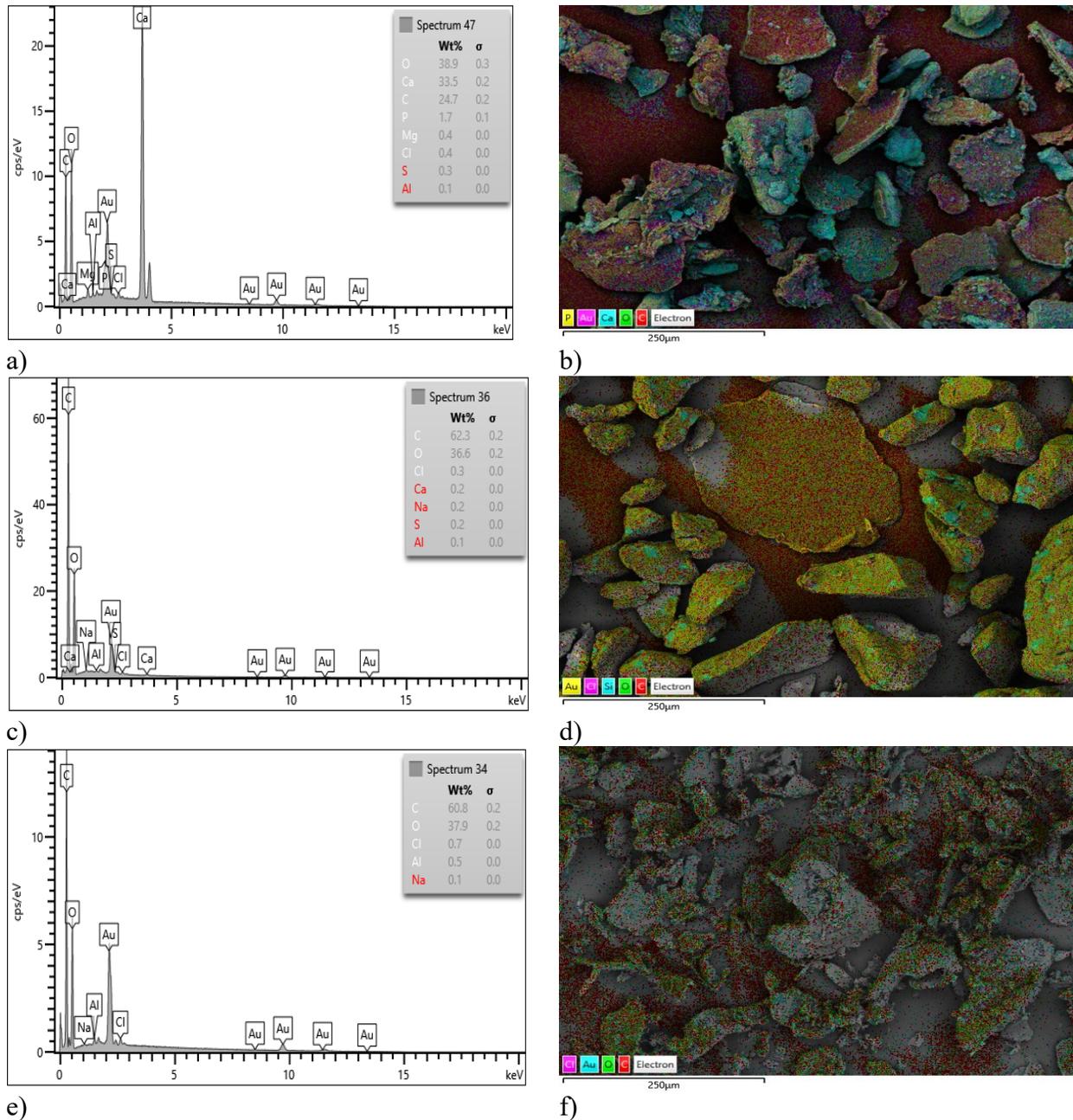


e)



f)

Figura 4.6. Microscopía electrónica de barrido (SEM, en inglés): a), b) Quitosana mineralizada a 100x y 5000x, respectivamente; c), d) Quitosana obtenida por método convencional a 100x y 5000x, respectivamente; e), f) Quitosana Sigma Aldrich convencional a 100x y 5000x, respectivamente



e) f) *Figura 4.7. Espectroscopía de energía dispersa (EDS, en inglés). a), b) Espectros de quitosana mineralizada; c), d) Quitosana obtenida por método convencional; e), f) Quitosana Sigma Aldrich*

Para el caso de la quitosana obtenida por método convencional (Figura 4.7c, d) y la quitosana Sigma-Aldrich (Figura 4.7e, f) no se encontraron trazas de minerales, lo que le permite generar una estructura más lisa e impermeable. Para ambos casos se puede asegurar un adecuado proceso de desmineralización.

En ellos, se grafica el número (conteo) de rayos X recibidos y procesados por el detector en función de la energía de los niveles atómicos de los elementos detectados. De acuerdo con lo expuesto en la Figura 4.6 y lo observado en la Figura 4.7 se puede confirmar para la quitosana mineralizada (Figura 4.7a, b) la presencia de calcio en su forma de ion  $\text{Ca}^{2+}$ . Por otro lado, la identificación de carbono y oxígeno en la estructura podría favorecer la formación del anión  $\text{CO}_3^{2-}$  y a su vez, generar carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), lo cual confirmaría lo expuesto en la Figura 4.6b.

La mineralización o formación de carbonato de calcio en la estructura puede atribuirse a la nucleación cinética y termodinámica generada a partir de la interacción entre la quitosana producida y el alto contenido de calcio en el disolvente (Rojas, 2008).

La estructura rugosa y porosa de la quitosana mineralizada podría considerarse favorable para el uso de la quitosana como adsorbente en la extracción en fase sólida, pues, confiere permeabilidad a la estructura y permite un mejor flujo de la muestra a través del cartucho.

### **4.2. Optimización del proceso de extracción en fase sólida de la metribuzina, prometrina y terbutilazina**

Debido a que la quitosana Sigma-Aldrich y la quitosana obtenida por el método convencional carecían de poros en su superficie no fue posible su aplicación como fase sólida. Al momento de hacer pasar la solución acuosa de plaguicidas por el cartucho de EFS la muestra no logró fluir, por la dificultad de la transferencia de masa.

Por lo anterior, a continuación, se presenta únicamente la optimización del proceso de extracción con la quitosana mineralizada, ya que, al poseer poros en su superficie, la permeabilidad favoreció el flujo de la solución acuosa.

4.2.1. Efecto de la saturación de la matriz

Se calculó el porcentaje de recuperación de los plaguicidas (Ecuación 4) como indicador de la eficiencia de proceso de extracción. En la Figura 4.8 se mostró que, al saturar la muestra con NaCl, se incrementó la capacidad de adsorción de los analitos en el adsorbente de quitosana mineralizada.

$$\% \text{ de recuperación (\%R)} = \frac{\text{Área obtenida}}{\text{Área esperada}} * 100 \quad (4)$$

Para los tres plaguicidas analizados se obtuvo la misma tendencia. Cuando la matriz no se saturó con NaCl los porcentajes de recuperación fueron menores al 0.5%, indicando que los plaguicidas no formaron interacciones químicas con el adsorbente. Esto se debe a que los sitios activos de la quitosana (-NH<sub>2</sub> y -OH) formaron enlaces de hidrógeno con el agua impidiendo la retención de los analitos en el adsorbente contenido en la columna de extracción.

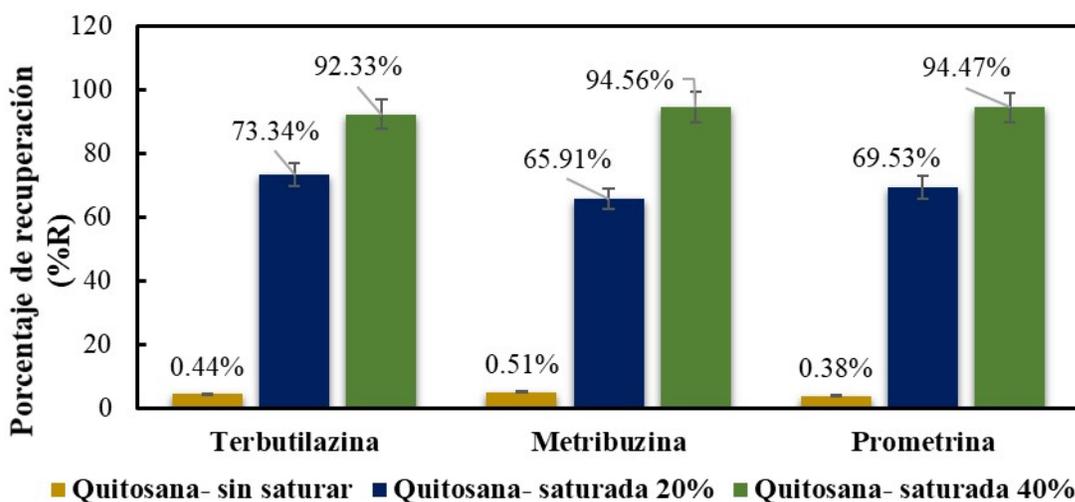


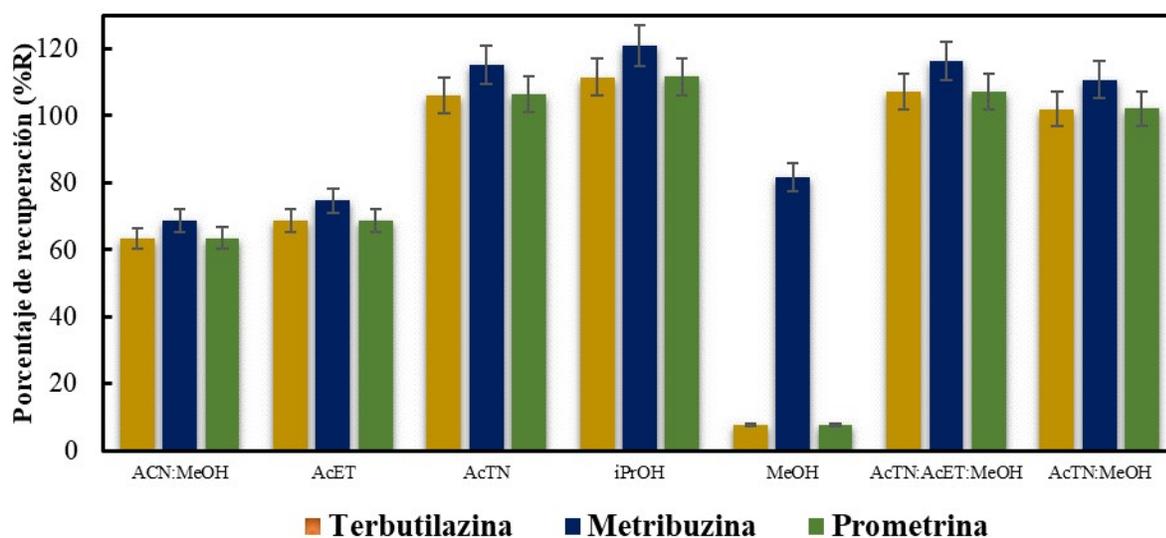
Figura 4.8. Efecto de la saturación del agua de las mezclas de plaguicidas con NaCl

La influencia de la saturación mostró que al agregar 20 y 40% de NaCl se incrementa de forma significativa el porcentaje de recuperación de la metribuzina, terbutilazina y prometrina. Esto se debe a que las moléculas de agua solvatan a los iones de la sal y, por lo tanto, se reduce la capacidad del agua de formar puentes de hidrógeno con otros grupos OH; lo que se manifiesta en el aumento de la transferencia de los analitos de la matriz al adsorbente (Kharbouche *et al.*,

2019). Por esta razón es que las triazinas estudiadas se pueden retener en la quitosana, lo que dio como resultado porcentajes de retención mayores al 90%.

#### 4.2.2. Efecto del disolvente de elución (tipo y volumen)

La Figura 4.9 muestra el efecto que tiene el tipo de disolvente utilizado en la elución de las triazinas. Estos disolventes fueron evaluados de forma separada y se encontró que los mayores porcentajes de recuperación se obtenían con acetona e isopropanol de forma independiente. Estos valores fueron mayores para la terbutilazina y menores para la prometrina y metribuzina.



\* ACN: Acetonitrilo, MeOH: Metanol, AcET: Acetato de etilo, iPrOH: isopropanol y AcTN: acetona

Figura 4.9. Efecto del tipo de disolvente en la elución de los analitos

La Figura 4.9 muestra que los disolventes con mayor porcentaje de recuperación para los tres plaguicidas fueron el isopropanol, la acetona y el acetonitrilo. Por otro lado, el metanol presenta mejores porcentajes de recuperación para la metribuzina, mientras que para la prometrina y terbutilazina el porcentaje de recuperación fue del 10%.

Para el caso de la metribuzina, la interacción quitosana-plaguicida es a través de enlaces de hidrógeno entre el grupo amino libre y carboxilo presente en la estructura de la metribuzina y los grupos hidroxilos y aminos de la quitosana. Por esta razón, debido a la naturaleza química del

## Resultados y discusión

metanol, que es un disolvente altamente polar, este fue capaz de romper la interacción adsorbente-analito, al formar puentes de hidrógeno con la metribuzina.

Las interacciones que predominan en el caso de la prometrina y terbutilazina son interacciones polares débiles como las interacciones hidrofílicas o dipolo-dipolo y debido a esto, estos analitos no logran ser eluidos con el metanol, pero se eluyen con disolventes de mediana polaridad como el isopropanol o con los disolventes apróticos como la acetona, acetato de etilo y acetonitrilo que son incapaces de interactuar a través de la formación de puentes de hidrógeno. Por esto, se seleccionó una mezcla de acetona: metanol en proporciones 80:20 para la elución de los compuestos una vez retenidos.

De acuerdo con la Figura 4.10, el volumen de elución del disolvente seleccionado (acetona:metanol, 80:20, v/v) se estudió entre un rango de 2 a 10 mL. Los resultados obtenidos mostraron que el volumen de 6 mL de mezcla acetona: metanol permitió la elución completa de los plaguicidas del adsorbente. Es importante mencionar que, a partir de este volumen, la respuesta de los compuestos fue nula lo que significa que las triazinas, se eluyeron en su totalidad.

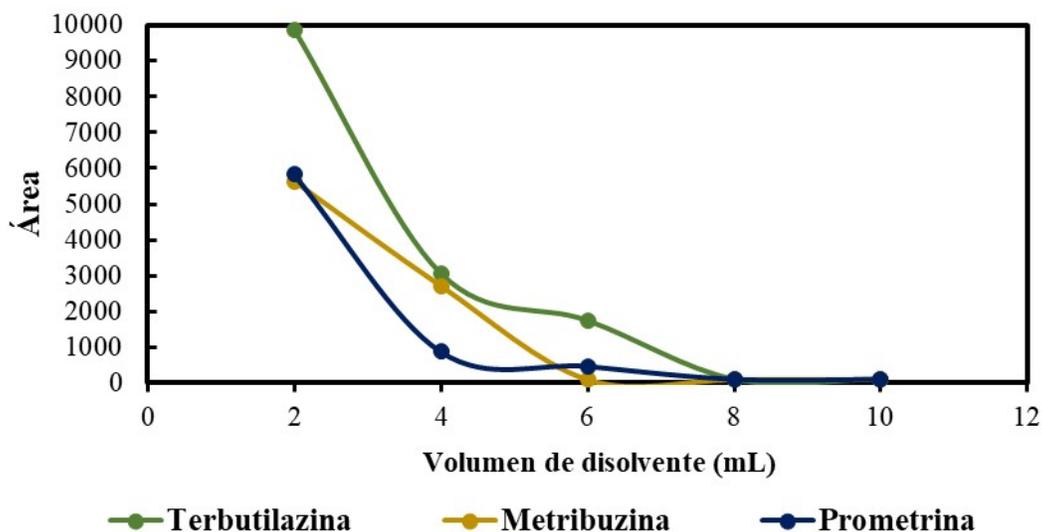


Figura 4.10. Efecto del volumen de disolvente

4.2.3. Efecto de la cantidad de adsorbente

Debido a que la cantidad de adsorbente es un parámetro de gran importancia para lograr buenos porcentajes de recuperación en la EFS, se evaluó la cantidad óptima de adsorbente en los cartuchos. Estos fueron empacados con 100, 200, 300, 400, 500 y 600 mg de la quitosana mineralizada y se hizo pasar una solución de 50 µg/L. Los resultados se muestran en Figura 4.11.

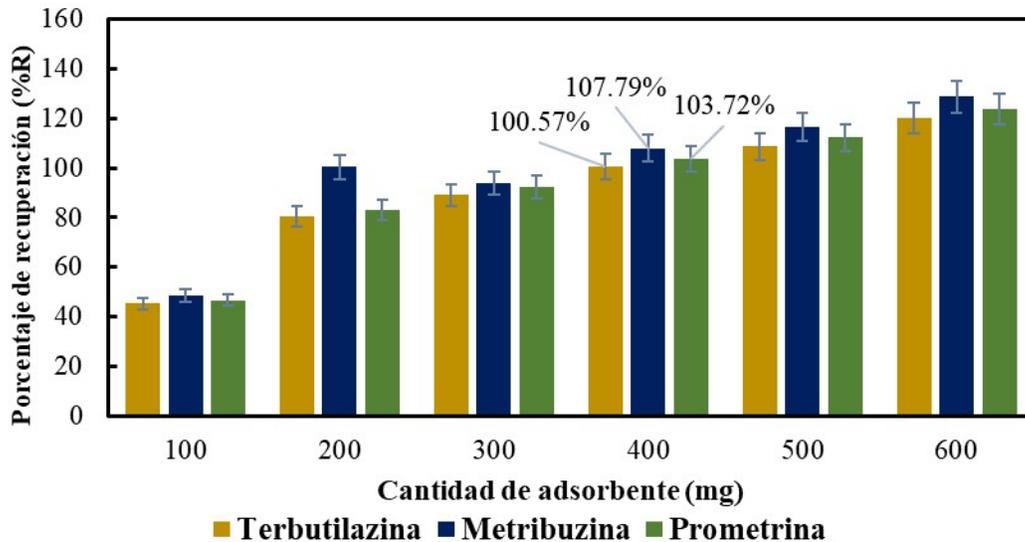


Figura 4.11. Porcentaje de recuperación debida a la variación en la cantidad de adsorbente

El efecto de la cantidad de quitosana mineralizada (Figura 4.11) como adsorbente empacado en cartuchos de EFS mostró que al incrementar la cantidad de adsorbente incrementa el porcentaje de recuperación para los tres plaguicidas. Lo anterior se debe a que la capacidad de adsorción incrementa a medida que aumenta la cantidad de adsorbente. De esta manera, se obtiene una mayor disponibilidad de sitios activos en la fase sólida para que se produzca la retención de los compuestos.

A partir de los cartuchos de 400 mg los porcentajes de recuperación son más del cien por ciento (por cuestiones analíticas y de cálculos). Debido a los altos porcentajes de recuperación, se decidió trabajar con cartuchos de 500 mg ya que con esta cantidad es necesario emplear los 6 mL de la mezcla acetona: metanol para eluir a los analitos en su totalidad y es la cantidad de adsorbente promedio que los cartuchos comerciales emplean para extracción en fase sólida.

### 4.2.4. Comparación de la adsorbente quitosana mineralizada con cartuchos comerciales $C_{18}$ y *OASIS HLB*

Algunas de las características de los cartuchos para EFS de la marca *HLB Oasis*® son las siguientes: “El adsorbente es un polímero muy hidrofílico, humectable con agua, posee equilibrio hidrofílico-lipofílico único, mantiene capacidad de retención elevada incluso si se seca después del acondicionamiento. Este adsorbente de fase reversa es ideal para analitos neutros o básicos” (como es el plaguicida prometrina) “y ácidos” (como la metribuzina) (Waters, 2020).

El cartucho  $C_{18}$  *CHROMABOND*® (f= flujo rápido) posee las siguientes características: “Es de material a base de sílice ligado a octadecilo, con contenido de carbono del 14%. Proporciona interacciones hidrofóbicas y no polares con una amplia variedad de compuestos orgánicos. Es útil para la limpieza de muestras con grandes variaciones estructurales” (diferencias de polaridad) (Waters, 2020).

Las características mencionadas muestran que los cartuchos comerciales *HLB Oasis*® y  $C_{18}$  *CHROMABOND*® son útiles para la EFS de la metribuzina, prometrina y terbutilazina. Con lo anterior se logró hacer la comparación con los cartuchos elaborados a base de quitosana mineralizada.

La Figura 4.12 muestra que el porcentaje de retención es del 100% para los tres tipos diferentes de adsorbentes. Esto demuestra que la quitosana mineralizada obtenida de forma ecológica puede ser utilizada como fase sólida en las columnas de EFS, y que los resultados finales de la extracción e identificación son comparables con los cartuchos comerciales. Estos cartuchos comerciales son costosos y una vez hecho el análisis estos no son reutilizables. En esta investigación, al terminar un análisis, los cartuchos elaborados con quitosana mineralizada se podrían volver a recuperar desarmando el cartucho, sin perder la capacidad de retención y afinidad por los analitos, haciendo que el precio del análisis sea más económico y con menos disposición de residuos, ya que al terminar su uso se podrían separar y disponer de manera adecuada gracias a la biodegradabilidad de la quitosana. La corroboración de esta posible reutilización ya no pudo realizarse debido a la suspensión de actividades después del 20 de marzo de 2020.

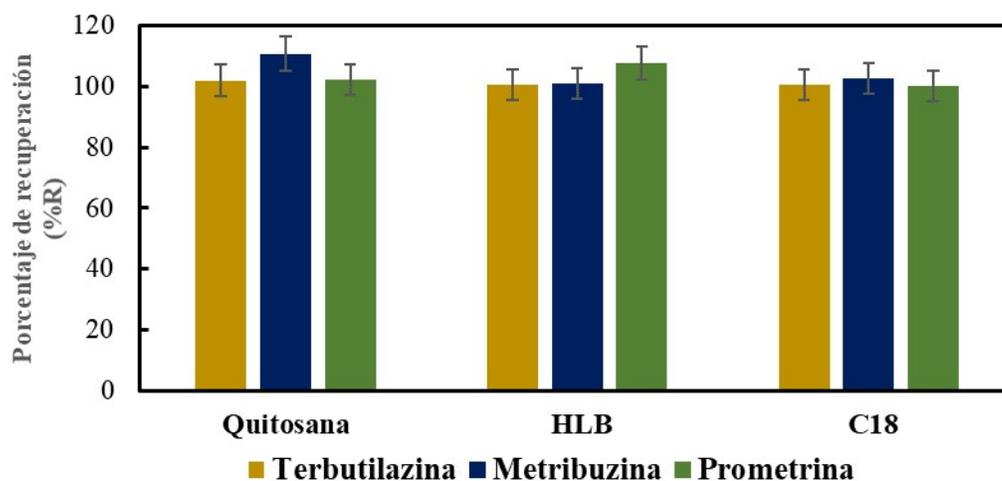


Figura 4.12. Comparación de la SPE con quitosana obtenida con el sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub> y cartuchos comerciales (HLB y C<sub>18</sub>)

#### 4.2.5. Posibles aplicaciones de la quitosana mineralizada como fase sólida en técnicas de preparación de muestras

De acuerdo con los resultados anteriormente expuestos, la quitosana mineralizada obtenida a partir de residuos de camarón utilizando el sistema CaCl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O como medio extractante, presenta propiedades diferentes en comparación con la quitosana obtenida por el método convencional. Las principales características de este compuesto son la presencia de minerales (principalmente carbonato de calcio), una estructura cristalina y la presencia de poros en su superficie que le confieren permeabilidad ante el agua. Estas propiedades en particular le permiten a la quitosana mineralizada la posibilidad de ser utilizada como adsorbente de bajo costo en diversas técnicas de preparación de muestras. Por ejemplo, puede ser utilizada en la extracción en fase sólida de matrices no acuosas como los aceites (Ballesteros *et al.*, 2007; Diaz *et al.*, 2016; Hakme *et al.*, 2018). También puede ser utilizada como adsorbente de limpieza en procesos de “clean up” (Zhao *et al.*, 2019) gracias a su alta afinidad para formar puentes de hidrógeno con el agua, por lo que podría sustituir a los adsorbentes convencionales como el *PSA* (por sus siglas en inglés *Primary-Secundary amine*) y C<sub>18</sub>. También puede ser utilizada como agente dispersante en procesos de dispersión de matriz en fase sólida (Badawy *et al.*, 2018; Lucas *et al.*, 2018; Razavi y Sarafraz, 2017; Rubio *et al.*, 2019).

## **Resultados y discusión**

Estas posibles aplicaciones son muy importantes y debido a que proviene de un residuo alimentario de la industria pesquera, esta quitosana mineralizada es una excelente alternativa ecológica para sustituir el uso de otros adsorbentes obtenidos químicamente.

## CAPÍTULO 5

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

De acuerdo con los objetivos propuestos en esta investigación se concluye lo siguiente:

- Fue posible la obtención de quitosana mineralizada a partir de los residuos de camarón café (*Farfantepenaeus aztecus*) al utilizar el sistema  $\text{CaCl}_2\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ , ultrasonido y agitación
- En comparación con las propiedades químicas y físicas de la quitosana Sigma-Aldrich usada como control y la quitosana obtenida con el método químico convencional, la quitosana mineralizada presentó propiedades diferentes. Por ejemplo, contiene minerales, carbonato de calcio y una superficie porosa. Por tanto, el disolvente patentado por la UNAM (MAC-141©) como acrónimo de la mezcla molar 1:4:1 de  $\text{MeOH-H}_2\text{O-CaCl}_2$ , además de ser utilizado en la obtención de quitina, también puede ser utilizado junto con la agitación y el ultrasonido para inducir la reacción de desacetilación y obtener quitosana con un porcentaje de desacetilación superior al 40% (Borja-Urzola *et al.*, 2020, 2021)
- La quitosana mineralizada, debido a su permeabilidad, fue aplicada de manera satisfactoria como adsorbente en la extracción en fase sólida para aislar, preconcentrar y cuantificar metribuzina, terbutilazina y prometrina desde el agua. Debido a la alta polaridad del agua y a la polaridad de la quitosana, la aplicación se logró gracias a la saturación de las muestras con NaCl. Obteniéndose mejores porcentajes de recuperación al saturar la muestra al 40%
- La quitosana mineralizada tiene potencial para ser utilizada como adsorbente de bajo costo en procesos de preparación de muestras previos al análisis cromatográfico

### 5.2. Recomendaciones

De acuerdo con los resultados obtenidos se recomienda continuar estudiando lo siguiente:

- \* Someter a la harina de camarón a un proceso de desproteínización antes del tratamiento con el sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub> para evaluar si hay una mejora en el porcentaje de desacetilación de la quitosana.
- \* Probar el sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub>, la agitación y el ultrasonido en la obtención de quitosana a partir de otros residuos de crustáceos. Por ejemplo, gambas, jaibas, langostinos, calamares, etc.
- \* Aplicar la quitosana desmineralizada como fase sólida en el análisis de matrices no acuosas.
- \* Y, finalmente, lo que ya no pudo corroborarse en esta investigación: Al terminar un análisis, de los cartuchos elaborados con quitosana mineralizada volver a recuperar el material sólido desarmando el cartucho, para reutilizarlo evaluando que mantenga la capacidad de retención y afinidad por los analitos, ya que esto haría que el precio del análisis fuera más económico y con menos disposición de residuos ya que al terminar su uso se podrían separar los componentes disponiéndolos de manera adecuada y tal vez debido a la biodegradabilidad de la quitosana ésta pudiera ser metabolizada por microorganismos como los encontrados en la composta.

## ANEXOS

### A.1. Análisis estadístico correspondiente al análisis bromatológico de las muestras de quitosana evaluadas

Se realizó una comparación estadística a un 95% de confianza de las determinaciones de ceniza, humedad, lípidos y proteínas con respecto de las muestras de quitosana evaluadas (mineralizada, obtenida por método convencional y Sigma Aldrich) usando Microsoft Excel 365.

La Tabla A.1 correspondiente al análisis de varianza (ANDEVA, *ANOVA* por sus siglas en inglés) presenta para las determinaciones, tipos de quitosana y la interacción entre ellos valores de F mayores al valor crítico de F, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que, si existe diferencia significativa de los parámetros evaluados, respectivamente.

*Tabla A.1. Análisis de varianza (ANDEVA, ANOVA por sus siglas en inglés) del análisis bromatológico, respecto a las muestras de quitosana evaluadas*

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Determinaciones	236.81	1	236.81	334.64	3.94E-10	4.74
Tipos de quitosana	667.21	2	333.60	471.42	3.94E-12	3.88
Interacción	1138.90	2	569.45	804.68	1.64E-13	3.88
Dentro del grupo	8.49	12	0.70			
Total	2051.42	17				

H<sub>0</sub>: Las medias entre parámetros son iguales; H<sub>1</sub>: Las medias entre parámetros son diferentes

## A.2. Análisis estadístico correspondiente al porcentaje de N-acetilación respecto a las muestras de quitosana evaluadas

Se realizó una comparación estadística a un 95% de confianza entre el porcentaje N-acetilación y las muestras de quitosana evaluadas (mineralizada, obtenida por método convencional y Sigma Aldrich).

La Tabla A.2 correspondiente al análisis de varianza (ANDEVA, ANOVA por sus siglas en inglés) presenta para la N-acetilación y las muestras evaluadas un valor de F superior al valor crítico de F, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que, si existe diferencia significativa entre el porcentaje de N-acetilación de las muestras de quitosana evaluadas.

*Tabla A.2. Análisis de varianza (ANDEVA, ANOVA por sus siglas en inglés) del porcentaje de N-acetilación con respecto de las muestras de quitosana evaluadas*

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.14	2	0.07	1465.33	3.27E-05	9.55
Dentro de los grupos	1.5E-04	3	5E-05			
Total	0.14	5				

$H_0$ : Las medias entre parámetros son iguales;  $H_1$ : Las medias entre parámetros son diferentes

### A.3. Análisis estadístico de la SPE con quitosana obtenida con el sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub> y cartuchos comerciales (*HLB* y *C<sub>18</sub>*)

Se realizó una comparación estadística a un 95% de confianza del porcentaje de recuperación de los tres herbicidas evaluados (metribuzina, prometrina, terbutilazina) respecto al sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub> y los cartuchos comerciales *HLB* y *C<sub>18</sub>*.

La Tabla A.3 correspondiente al análisis de varianza (ANDEVA, *ANOVA* por sus siglas en inglés) presenta para las muestras de herbicidas, cartuchos e interacción entre grupos valores de F menores al valor crítico de F, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula y se concluye que, no existe diferencia significativa entre el porcentaje de recuperación entre los herbicidas, los cartuchos o la interacción entre ellos.

Tabla A.3. Análisis de varianza (ANDEVA, *ANOVA* por sus siglas en inglés) de la SPE con quitosana obtenida con el sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub> y cartuchos comerciales (*HLB* y *C<sub>18</sub>*)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Herbicidas	43.99	2	21.99	0.64	0.54	4.25
Cartuchos	44.76	2	22.38	0.65	0.54	4.25
Interacción	126.57	4	31.64	0.92	0.49	3.63
Dentro del grupo	309.03	9	34.33			
Total	524.36	17				

H<sub>0</sub>: Las medias entre parámetros son iguales; H<sub>1</sub>: Las medias entre parámetros son diferentes

#### A.4. Acervo fotográfico



Figura A.4.1. Preparación del sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub>

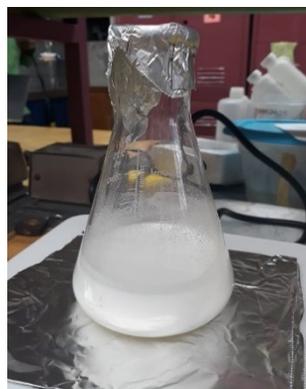


Figura A.4.2. Obtención del sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub> (1 mol de metanol, 4 moles de agua y 1 mol de cloruro de calcio)



Figura A.4.3. Residuos de camarón de la especie Farfantepenaeus aztecus



Figura A.4.4. Preparación de los residuos lavados y secados a 110°C durante dos horas



Figura A.4.5. Harina de camarón parcialmente desproteinizada



Figura A.4.6. Conversión de la harina de camarón a quitosana mineralizada

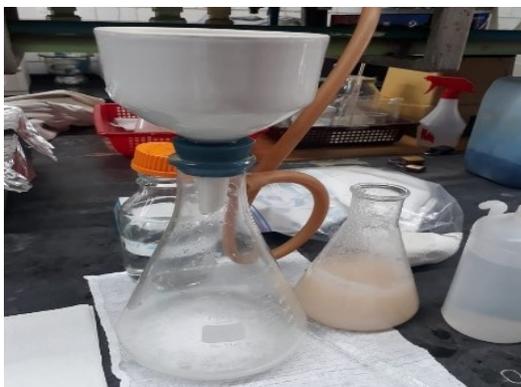


Figura A.4.7. Filtración de la quitosana mineralizada



Figura A.4.8. Obtención de quitosana mineralizada



Figura A.4.9. Cartuchos para extracción en fase sólida elaborados con quitosana mineralizada



Figura A.4.10. Extracción en fase sólida de plaguicidas triazínicos con cartuchos comerciales HLB y C18

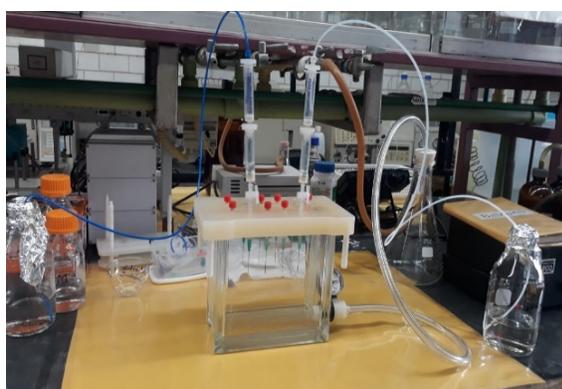


Figura A.4.11. Sistema utilizado para la extracción en fase sólida de plaguicidas



Figura A.4.12. Cromatógrafo de gases Agilent Technologies Series 7890 A con detector de ionización de flama (FID)

### A.5. Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación

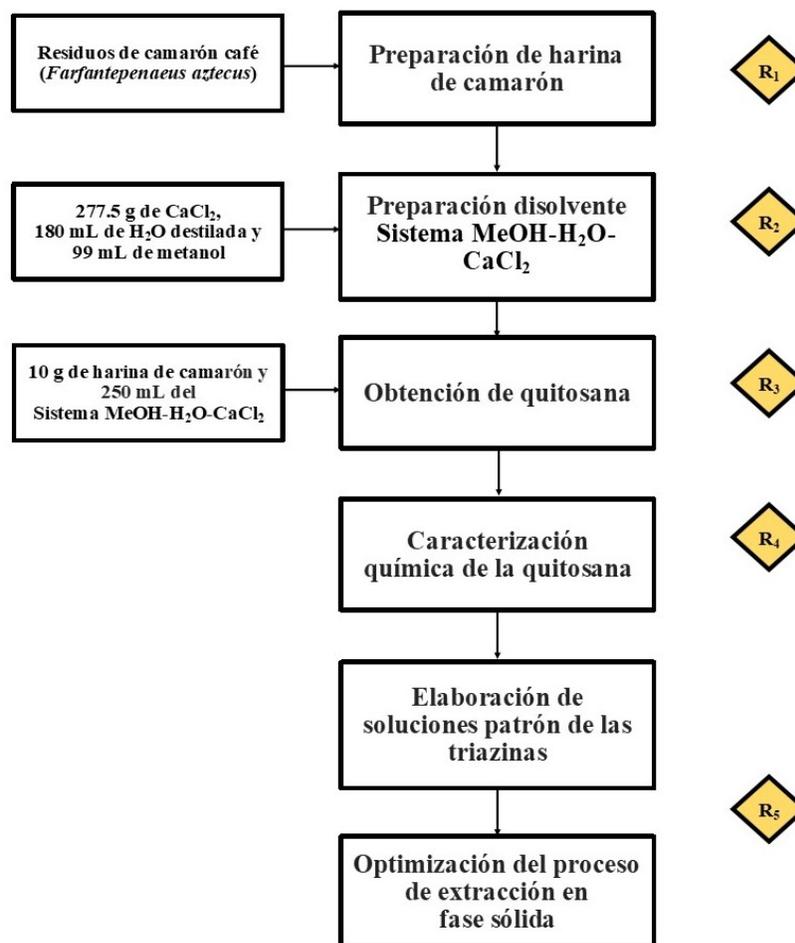


Figura A.5.1. Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación

**R1:** Los residuos orgánicos no peligrosos provenientes del cefalotórax de camarón se desecharon de forma adecuada como basura orgánica.

**R2:** El CaCl<sub>2</sub> obtenido como residuo del Sistema MeOH-H<sub>2</sub>O-CaCl<sub>2</sub> se recupera para ser reutilizado en la elaboración de nuevos lotes de disolvente.

**R3:** El medio acuoso obtenido del filtrado de la quitosana se desecha en el alcantarillado.

Los residuos ácidos generados del análisis bromatológico para la determinación de proteínas por el método de Kjeldahl se neutralizan para ser desechados en el alcantarillado y los residuos

peligrosos generados a partir de las etapas de digestión y destilación se etiquetaron adecuadamente para su posterior tratamiento en la Unidad de Gestión Ambiental de la Facultad de Química de la UNAM (UGA).

**R5:** Los residuos de disolventes orgánicos y plaguicidas provenientes de los procesos de elaboración de soluciones patrón de las triazinas y de la extracción en fase sólida fueron etiquetados y entregados a la Unidad de Gestión Ambiental de la Facultad de Química de la UNAM (UGA) para su posterior tratamiento.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aiba, S. (1991). Studies on chitosan: 3. Evidence for the presence of random and block copolymer structures in partially N-acetylated chitosans. *International Journal of Biological Macromolecules*, 13(1), 40-44.
- Akdogan, A., Divrikli, U., Elci, L. (2013). Determination of triazine herbicides and metabolites by solid phase extraction with HPLC analysis. *Analytical Letters*, 46(15), 2464-2477.
- Andrade, A., Canle, M., Leroy-Cancellieri, V., Cerda, V. (2016). Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). *Trends in Analytical Chemistry*, 80(1), 641-654.
- Arancibia, M., Alemán, A., Calvo, M., Caballero, M., Montero, P., Gómez, C. (2014). Antimicrobial and antioxidant chitosan solutions enriched with active shrimp (*Litopenaeus vannamei*) waste materials. *Food Hydrocolloids*, 35(1), 710-717.
- Arbia, W., Arbia, L., Adour, L., Amrane, A. (2013). Chitin extraction from crustacean shells using biological methods-a review. *Food Technology and Biotechnology*, 51(1), 12-25.
- Armenta, S., Garrigues, S., Francesc, A., Esteve, T., De la Guardia, M. 2019. Green extraction techniques in green analytical chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116(1), 248-253.
- Augusto, F., Hantao, L., Noroska, M., Braga, S., 2013. New materials and trends in sorbents for solid-phase extraction. *Trends in Analytical Chemistry*, 43(1), 14-23.
- Badawy, M., Nouby, M., Salam, M. (2018). Development of a solid-phase extraction (SPE) cartridge based on chitosan-metal oxide nanoparticles (Ch-MO NPs) for extraction of pesticides from water and determination by HPLC. *International Journal of Analytical Chemistry*, doi: 10.1155/2018/3640691, pp. 1-6. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6189673/>
- Bagheri, H., Khalilian, F., Naderi, M., Babanezhad, E. (2010). Membrane protected conductive polymer as micro-SPE device for the determination of triazine herbicides in aquatic media. *Journal of Separation Science*, 33(1), 1132-1138.
- Ballesteros, E., Ramos, N., García, A. (2007). Residuos tóxicos en aceite de oliva, determinación de plaguicidas. *I Congreso de la Cultura del Olivo*, 1, 507-516.

## Referencias bibliográficas

- Barros, I., Guzmán, L., Tarón, A. (2015). Extracción y comparación de la quitina obtenida a partir del caparazón de *Callinectes sapidus* y *Penaeus vannamei*. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, 18(1), 227-234.
- Benvenuto, F., Marín, J., Sancho, J., Canobbio, S., Mezzanotte, V., Hernández, F. (2010). Simultaneous determination of triazines and their main transformation products in surface and urban wastewater by ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397(1), 2791-2805.
- Borja-Urzola, A.d.C., García-Gómez, R.S., Bernal-González, M., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. (2021). Chitosan-calcite from shrimp residues: A low-cost adsorbent for three triazines removal from aqueous media. *Materials Today Communications*. Available online 14 February 2021, 102131. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102131>
- Borja-Urzola, A.d.C., García-Gómez, R.S., Flores-Ortega, R.A., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. (2020). Chitosan from shrimp residues with a saturated solution of calcium chloride in methanol and water. *Carbohydrate Research*. 497 (2020) 108116. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.108116>.
- Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F., Argüelles-Monal, W., Rinaudo, D. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer*, 42(1), 3569-3580.
- Camel, V. (2003). Solid phase extraction of trace elements. *Spectrochimica Acta Part B*, 58(1), 1177-1223.
- Cañipa-Morales, A. (1994). Estudio químico sobre el aprovechamiento integral del cefalotórax de camarón. Tesis de Maestría en Ciencias de Alimentos. México: Facultad de Química, UNAM. <http://132.248.9.195/pmig2016/0215134/Index.html>.
- Cárdenas, G., Cabrera, G., Taboada, E. (2004). Chitin characterization by SEM, FTIR, XRD, and <sup>13</sup>C Cross polarization/ Mass angle spinning NMR. *Journal of Applied Polymer Science*, 93(1), 1876-1885.
- Carranco, M., Calvo, C., Carrillo, D., Ramírez, C., Morales, B., Sanginés, M., Fuente, M., Ávila, G., Pérez-Gil, R. (2011). Harina de crustáceos en raciones de gallinas ponedoras. Efecto en las variables productivas y evaluación sensorial de huevos almacenados en diferentes condiciones. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 45(2), 171-175.
- Catzin, C. (2009). Proceso de solubilización/precipitación y de hidrólisis enzimática para la obtención de concentrados de proteína, a partir de cefalotórax de camarón blanco *Litopenaeus*

## Referencias bibliográficas

- vannamei*. Tesis de Maestría en Ciencias. Uso Manejo y Preservación de los Recursos Naturales (Orientación en Biotecnología). Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C. La Paz, Baja California Sur, México.
- Celis, R., Trigo, C., Facenda, G. Hermosin, M., Cornejo, J. (2007). Selective modification of clay minerals for the adsorption of herbicides widely used in olive groves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(16), 6650–6658.
- Chacón, A., Salas, C., Zamora, L., (2016). Shrimp cephalothorax meal in laying hen diets: Effects on egg. *Mesoamerican Journal of Agronomy*, 27(1), 81-93.
- Colla, L., Lazzarotto, A., De Lima, M., Bertolin, T., Vieira, A. (2007). Isolamento e seleção de fungos para biorremediação a partir de solo contaminado com herbicidas triazínico. *Ciência e Agrotecnologia*, 32(3), 809-813.
- CONAPESCA. (2018). Estadísticas de Producción Pesquera. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. [En línea] (actualizado 30 de diciembre de 2018). Disponible en: <https://www.gob.mx/conapesca/prensa/en-el-2019-se-impulsara-la-acuacultura-con-una-vision-de-mayor-impacto-social-conapesca-186184>. 07/07/2020.
- Conislla-Bello, J., Jacinto, C., Maza, I., Jahuira, M., Pando, A., Mayta, H., Valderrama, A. (2016). Desarrollo de micropartículas de ‘quitosano’ cuaternizado y entrecruzado para la adsorción de ácido desoxirribonucleico (ADN). *Revista Social Química de Perú*, 82(4), 467-479.
- Cuéllar, P., Cadena, C. (2006). Sustentabilidad y pesca responsable en México, evaluación y manejo. Instituto Nacional de la Pesca. Ciudad de México, México.
- Diaz, J., Cutillas, V., Lozano, A., Pizzutti, L., Fernández, A. (2016). Determination of pesticides in edible oils by liquid chromatography-tandem mass spectrometry employing new generation materials for dispersive solid phase extraction clean-up. *Journal of Chromatography A*, 1462, 8-18.
- DOF. (2009). DIARIO OFICIAL (Primera Sección). Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. CUARTO.- Se modifica el encabezado de la tabla 13 para quedar como sigue: Tabla 21 - Reglas para la escritura de los números y su signo decimal. Signo decimal El signo decimal debe ser una coma sobre la línea (,) o un punto sobre la línea (.). Si la magnitud de un número

## Referencias bibliográficas

- es menor que la unidad, el signo decimal debe ser precedido por un cero. *Diario Oficial de la Federación*: jueves 24 de septiembre de 2009. Poder Ejecutivo Federal. México D.F., México.
- Duperly, G., Laverde, D., Escalante, H. (2006). Extracción líquido-líquido de bario con DEPHA: equilibrio químico. *Revista Facultad de Ingeniería*, 36(1), 110-121.
- El Knidri, H. Belaabed, R., Addaou, A., Laajeb, A., Lahsini, A. (2018). Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120(1), 1181-1189.
- Escobar, D., Ossa, C., Quintana, M., Ospina, W. (2013). Optimización de un protocolo de extracción de quitina y ‘quitosano’ desde caparzones de crustáceos. *Scientia et Technica*, 18(1), 260-266. <https://doi.org/10.22517/23447214.7555>
- Escobar, P., Vergara, A. (2013). Determining the relation between the proportion of the amino group and the degree of deacetylation of chitosan. *Revista de Ciencias*, 18(1), 73-88.
- FAO. (1994) Acuicultura costera y medio ambiente: El contexto. Documento Técnico de Pesca. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. [En línea] Disponible en: <http://www.fao.org/3/T0697S03.htm#ch3>. 18/05/2020.
- FAO. (2019). GLOBEFISH - Información y Análisis Comercial en Pesquerías. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. [En línea] (actualizado 23 de octubre de 2019). Disponible en: <http://www.fao.org/in-action/globefish/marketreports/resource-detail/es/c/1241043/>. 22/04/2020.
- FAO. (2020). Programa de información de especies acuáticas. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. [En línea]. Disponible en: [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus\\_vannamei/es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_vannamei/es). 11/05/2020.
- Florencia, C. (2011). Desarrollo y caracterización de matrices compuestas, ‘quitosano’/polímero sintético para regeneración de tejido óseo. Tesis Doctoral en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de la Plata. República Argentina.
- Flores-Ortega, R.A. (2004). Bioplástico de quitina: Formación de películas de quitina a partir de desechos de camarón por métodos ecológicos. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. UNAM. México. [En línea]. Disponible en: <http://132.248.9.195/ppt2004/0333631/Index.html>.
- Flores-Ortega, R.A. (2008). Obtención y caracterización de esponja de quitina a partir de cefalotórax de camarón. Tesis de doctorado en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado

## Referencias bibliográficas

- en Ciencias Químicas. UNAM. México. [En línea]. Disponible en: <http://132.248.9.195/ptd2008/agosto/0629854/Index.html>.
- Flores-Ortega, R.A., Barrera-Rodríguez, S., Durán-Domínguez de Bazúa, M.d.C. (2004). Extracción ecológica de quitina y subproductos. Solicitud de Registro: Octubre 1, 2004. Facultad de Química, UNAM. IMPI. PA/a/2004/009517. Patente Núm. 264482. Otorgada el 12 de febrero de 2009. Ciudad de México, México.
- Fontanals, N., Marce, R., Borrull, F. (2007). New materials in sorptive extraction techniques for polar compounds. *Journal of Chromatography A*, 1152(1), 14-31.
- Garbellini, G., Pedrosa, V., Salazar-Banda, G., Avaca, L. (2007). Metodologias eletroanalíticas para a determinação de herbicidas triazínicos por voltametria de onda quadrada e técnicas de deconvolução. *Química Nova*, 30(8), 2025-2034.
- Gaviría, J., Quattrini, D., Fougá, G., Bohé, A., Pasquevich, D. (2005). Estudio cinético de la descomposición del carbonato de calcio por cromatografía gaseosa. *Revista Matéria*, 1(1), 170-177.
- Godage, N., Gionfriddo, E. (2020). Use of natural sorbents as alternative and green extractive materials: A critical review. *Analytica Chimica Acta*, 1125(1), 187-200.
- Goodrich, J., Winter, T. (2007).  $\alpha$ -Chitin nanocrystals prepared from shrimp shells and their specific surface area measurement. *Biomacromolecules*, 8(1), 252-257.
- Guo, L., Qu, J., Geng, H., Yang, H. (2013). Development of a molecularly imprinted polymer for prometryne clean-up in the environment. *Journal of Separation Science*, 36(1), 3911-3917.
- Gutiérrez, M. (2005). Urgencias toxicológicas. Capítulo 1, Triazinas. CIATOX. [Internet] (2013). Disponible en: <http://www.encolombia.com/medicina/Urgenciastoxicologicas/Triazinas.htm>. 16/11/ 2019.
- Hakme, E., Lozano, A., Ferrer, C., Díaz, F., Fernandez, A. (2018). Analysis of pesticide residues in olive oil and other vegetable oils. *Trends in Analytical Chemistry*, 100, 167-179.
- Hamed, I., Özogul, F., Regenstein, J. (2016). Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. *Trends in Food Science and Technology*, 48(1), 40-50.
- Hernández, H., Águila, E., Flores, O., Agustín, E., Viveros, E., Ramos, E., 2009. Obtención y caracterización de 'quitosano' a partir de exoesqueletos de camarón. *Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales*, 22(3), 57-60.

## Referencias bibliográficas

- Hokkane, S., Bhatnagar, A., Sillanpää, M. 2016. A review on modification methods to cellulose-based adsorbents to improve adsorption capacity. *Water Research*, 91(1), 156-173.
- Horwitz, W. (2005). Official methods of Analysis of AOAC International. 18th edition. Maryland: AOAC International. [https://www.waters.com/waters/es\\_ES/Waters-Oasis-Sample-Extraction-SPE](https://www.waters.com/waters/es_ES/Waters-Oasis-Sample-Extraction-SPE). 20/04/2020.
- Hu, Y., Liu, R., Zhang, Y., Li, G. (2009a). Improvement of extraction capability of magnetic molecularly imprinted polymer beads in aqueous media via dual-phase solvent system. *Talanta*, 79(1), 576-582.
- Hu, Y., Wang, Y., Hu, Y., Li, G. (2009b). Liquid-liquid-solid microextraction based on membrane-protected molecularly imprinted polymer fiber for trace analysis of triazines in complex aqueous samples. *Journal of Chromatography A*, 1216, 8304-8311.
- Islam, S., Khan, S., Tanaka, M. (2004). Waste loading in shrimp and fish processing effluents: potential source of hazards to the coastal and nearshore environments. *Marine Pollution Bulletin*, 49(1-2), 103-110.
- Jalili, V., Barkhordari, A., Ghiasvand, A. (2020). A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews. *Microchemical Journal*, 151(1), 1-8.
- Katsumata, H., Kojima, H., Kaneco, S., Suzuki, T., Ohta, K. (2010). Preconcentration of atrazine and simazine with multiwalled carbon nanotubes as solid-phase extraction disk. *Microchemical Journal*, 96(1), 348-351.
- Kaya, M., Baran, T., Asan-Ozusaglam, Y., Tozak, O., Abbas-Mol, A., Menten, A. (2015). Extraction and characterization of chitin and chitosan with antimicrobial and antioxidant activities from cosmopolitan Orthoptera species (Insecta). *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 20(1), 168-179.
- Kharbouche, L., Gil García, M.D., Lozano, A., Hamaizi, H., Galera, M.M. (2019). Solid phase extraction of pesticides from environmental waters using an MSU-1 mesoporous material and determination by UPLC-MS/MS. *Talanta*, 199(1), 612-619.
- Kumari, S., Rath, P., Kumar, A., Tiwari, T. (2015). Extraction and characterization of chitin and chitosan from fishery waste by chemical method. *Environmental Technology*, 3(1), 77-85.
- Lavall, R., Assis, O., Campana-Filho, S. (2006).  $\beta$ -Chitin from the pens of *Loligo sp.*: Extraction and characterization. *Bioresource Technology*, 98(1), 2465-2472.

## Referencias bibliográficas

- Lucas, J., Schneider, A., Batista, J., Alves, A., Souza, S., Gilberto, E. (2018) Chitosan from shrimp shells: A renewable sorbent applied to the clean-up step of the QuEChERS method in order to determine multi-residues of veterinary drugs in different types of milk. *Food Chemistry*, 240, 1243-1253.
- Ma, G., Liu, Y., Kennedy, J., Nie, J. (2011). Synthesize and properties of photosensitive organic micro-SPE device for the determination of triazine herbicides in aquatic media. *Journal of Separation Science*, 33(1), 1132-1138.
- Malafaya, P., Silva, G., Reis, R.L. (2007). Natural–origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(1), 207-233.
- Mármol, Z., Gutiérrez, E., Páez, G., Ferrer, J., Rincón, M. (2004). Desacetilación termoalcalina de quitina de conchas de camarón. *Multiciencias*, 4(2), 1-10.
- Martínez, A., Cortez, M., Ezquerro, J., Graciano, A., Rodríguez, F., Castillo, M., Yépez, M., Plascencia, M., (2010). Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 305-315.
- Minke, R., Blackwell, J. (1978). Structure of Alpha-Chitin. *Journal of Molecular Biology*, 120(2), 167-181.
- Moawed, A., Abulkibash, B., El-Shahat, F. (2015). Synthesis of tannic acid azopolyurethane sorbent and its application for extraction and determination of atrazine and prometryn pesticides in foods and water samples. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 3(1), 61-66.
- Mohammadi, A., Ameli, A., Alizadeh, N. (2009). Headspace solid-phase microextraction using a dodecylsulfate-doped polypyrrole film coupled to ion mobility spectrometry for the simultaneous determination of atrazine and ametryn in soil and water samples. *Talanta*, 78(1), 1107-1114.
- Mohammed, M., Williams, P., Tverezovskaya, O. (2013). Extraction of chitin from prawn shells and conversion to low molecular mass chitosan. *Food Hydrocolloides*, 31(1), 166-171.
- Moldoveanu, V. (2015). Solid-Phase Extraction. En *Modern sample preparation for chromatography*. V. D. Serban Moldoveanu. Elsevier. Amsterdam, Países Bajos.
- Monter, J., Tirado, J., Zamudio, P., Rios, C., Ornelas, J., Salgado, R., Espinosa, V., Hernández, F. (2016). Extracción y caracterización de propiedades fisicoquímicas, morfológicas y

## Referencias bibliográficas

- estructurales de quitina y 'quitosano' de *Brachystola magna* (Girard). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(3), 749-761.
- Morales, Y., Miranda, L., Bernardo, M. (2014). Neurotoxicidad de los plaguicidas como agentes disruptores endocrinos: Una revisión. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 45(2), 5-12.
- Mourya, V., Inambar, N. (2008). Chitosan – modifications and applications: Opportunities galore. *Reactive and Functional Polymers*, 68(6), 1013-1051.
- Muzzarelli, R.A.A. (1977). Enzymic synthesis of chitin and chitosan. En: *Chitin*. Muzzarelli, R.A.A., ed. Ch. 1, pp. 5-44. Pergamon Press. Ancona, Italia.
- Nagaraju, D., Huang, S-D. (2007). Determination of triazine herbicides in aqueous samples by dispersive liquid-liquid microextraction with gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1161(1), 89-97.
- Navarro, A., Manrique, E., Díaz, C., Jacinto, C., Cuizano, N., Llanos, B. (2010). Síntesis y caracterización de 'quitosano' cuaternario nativo y reticulado en polvo para su aplicación en la adsorción de aniones metálicos. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 76(4), 313-321.
- Nielsen, S. (2009). Fat Analysis. En: *Food Analysis*. B. David y C. Ellefson, eds. Springer Science, pp. 117-133. New York, Estados Unidos.
- Nollet, L. (2004). Determination of moisture and ash contents of foods. En: W. Young y L. Bell. eds. *Handbook of food analysis*. New York: Marcel Dekker, 55-83.
- Ogawa, K., Yui, T. (1993). Crystallinity of partially N-acetylated chitosans. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 57(1), 1446-1469.
- Ortega-Granados, J., García-Gómez, R., Flores, R., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. (2015). Caracterización mecánica de bioesponjas de residuos de crustáceos como opción al poliestireno expandido en empaques para alimentos. *Química Central*, 4(1), 13-25.
- Oukali-Haouchine, O., Barriuso, E., Mayata, Y., Moussaoui, K. (2013). Factors affecting metribuzin retention in Algerian soils and assessment of the risks of contamination. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(1), 4107-4115.
- Pacheco, N. (2013). Extracción biotecnológica de quitina para la producción de 'quitosanos': Caracterización y aplicación. Tesis de doctorado en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. Ciudad de México, México.

## Referencias bibliográficas

- Pacheco-Fernández, I., Allgaier-Díaz, D.W., Mastellone, G., Cagliero, C., Díaz-Díaz, D., Pino, V. (2020). Biopolymers in sorbent-based microextraction methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 125, 115839.
- PPDB. (2019). Pesticide Properties Database [En línea]. Disponible en: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/>. 12/02/2020.
- Plotka-Wasyłka, J., Szczepańska, N., De la Guardia, M., Namieśnik, J. (2016). Modern trends in solid phase extraction: New sorbent media. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 77, 23-43.
- Prashanth, K., Tharanathan, N. (2007). Chitin/chitosan: Modifications and their unlimited application potential – an overview. *Trends in Food Sciences and Technology*, 18(1), 117-131.
- Quintero, J., Falguera, V., Muñoz, J. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: Importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Tumbaga*, 5(1), 93-118.
- Razavi, N., Sarafraz, A. (2017). New application of chitosan-grafted polyaniline in dispersive of phthalate esters in milk using high-performance liquid chromatography. *Journal of Separation Science*, 40(8), 1631-1854.
- Retamal, M., Costa, C., Suárez, J., Richter, P. (2013). Multi-determination of organic pollutants in water by gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 93(1), 93-107.
- Rhine, E., Fuhrmann, J., Radosevich, M. (2003). Microbial community responses to atrazine exposure and nutrient availability: Linking degradation capacity to community structure. *Microbial Ecology*, 46(1), 145-160.
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(1), 603-632.
- Rinaudo, M. (2008). Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer Internacional*, 57(1), 397-430.
- Rødde, R., Einbu, A., Várum, K. (2008). A seasonal study of the chemical composition and chitin quality of shrimp shells obtained from northern shrimp *Pandalus borealis*. *Carbohydrate Polymers*, 71(3), 388-393.
- Rodríguez, N. (2016). Determinación de triazinas en medio marino. Tesis de Doctorado en Química Ambiental. Programa de Doctorado “Química Ambiental y Fundamental”. Departamento de Química Analítica. Instituto Universitario de Medio Ambiente. Universidad de la Coruña. España.

## Referencias bibliográficas

- Rojas, J. (2008). Estudio de la mineralización de carbonato de calcio usando como matriz 'quitosano' y mezclas de 'quitosano' con polímeros sintéticos hidrosolubles. Tesis de Licenciatura en Químico. Departamento de Química Orgánica y Fisicoquímica. Universidad de Chile.
- Rubio, C., Nicácio, A., Rodrigues, C., Pelissari, L., Maldaner, L., Vergílio, J., (2019). Evaluation of dispersive solid-phase extraction (d-SPE) as a clean-up step for phenolic compound determination of *Myrciaria cauliflora* Peel. *Food Analytical Methods*, 13, 155-165.
- Sáez, A., Joheni, A., Urdaneta, G. (2014). Manejo de residuos sólidos en América Latina y el Caribe. *Omnia*, 20(3), 121-135.
- Sahoo, S., Manjiah, K., Datta, S., Shabeer, T., Kumar, J. (2014). Kinetics of metribuzin release from bentonite-polymer composites in water. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 49(1), 591-600.
- Šantrić, L., Radivojević, L., Sarić-Krsmanović, M., Umiljendić, J., Pejčev, R. (2019). Microbial activity in different soils in response to metribuzin treatment. *Journal Pesticides and Phytomedicine*, 32(2), 123-130.
- Seghir, B., Benhamza, M. (2017). Preparation and characterization of chitosan polymer from shrimp shells. *Food Measure*, 11(1), 1131-1147.
- Singer, N., Wooten, J. (2003). Method of extracting chitin from the shells of exoskeletal animals. Washington: Patente No. US20030060610.
- Teli, M. S. (2012). Extraction of chitosan from shrimp shells waste and application in antibacterial finishing of bamboo rayon. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(5), 1195–1200.
- Tlelo-Bárcena, B. (2021). Tesis de Maestría en proceso. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México.
- Valcarcel, M., Cárdenas, S., Simonet, B., Moliner, Y., Lucena, R. (2008). Carbon nanostructures as sorbent materials in analytical processes. *Trends in Analytical Chemistry*, 27(1), 34-43.
- Valladares, M., Cárdenas, C., Burelo, P., Melgoza, R. (2016). Non-conventional absorbers: sustainable alternatives for wastewater treatment. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, 16(31), 55-73.
- Van Pinxteren, M., Bauer, C., Popp, P. (2009). High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of 10 pesticides in water: A comparison between

## Referencias bibliográficas

- membrane-assisted solvent extraction and solid phase extraction. *Journal of Chromatography A*, 1216(1), 5800-5806.
- Viera-Santana, S., Santana-Rodríguez, J. (2015). Técnicas analíticas avanzadas para la extracción y preconcentración de contaminantes emergentes en muestras líquidas. *Revista de la Academia Canaria de Ciencias*, 25(1), 77-95.
- Wang, S., Ren, L., Liu, C., Ge, J., Liu, F. (2010). Determination of five polar herbicides in water samples by ionic liquid dispersive liquid-phase microextraction. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397(1), 3089-3095.
- Wang, S., She, Y., Hong, S., Du, X., Yan, M., Wang, Y., Qi, Y., Wang, M., Liang, W., Wang, J. (2019). Dual-template imprinted polymers for class-selective solid-phase extraction of seventeen triazine herbicides and metabolites in agro-products. *Journal of Hazardous Materials*, 367(1), 685-693.
- Waters. (2020). Productos Oasis para extracción de muestras. [En línea]. Disponible en: [https://www.waters.com/waters/es\\_ES/Waters-Oasis-Sample-Extraction-SPE.Products/nav.htm?locale=103&cid=513209](https://www.waters.com/waters/es_ES/Waters-Oasis-Sample-Extraction-SPE.Products/nav.htm?locale=103&cid=513209). 17/05/2020.
- Wu, J., Lord, H., Pawliszyn, J., Kataoka, H. (2000). Polypyrrole-coated capillary in-tube solid phase microextraction coupled with liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry for the determination of  $\beta$ -blockers in urine and serum samples. *Journal of Microcolumn Separations*, 12(4), 255-266.
- Yen, M-T., Yang, J.-H., Mau, J.-L. (2009). Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. *Carbohydrate Polymers*, 75(1), 15-21.
- Zablotowicz, R., Krutz, L., Reddy, K., Weaver, M., Koger, C., Locke, M.A. (2007). Rapid development of enhanced atrazine degradation in a Dundee silt loam soil under continuous corn and in rotation with cotton. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 852-859.
- Zhai, L., Bai, Z., Zhu, Y., Wang, B., Luo, W. (2018). Fabrication of chitosan microspheres for efficient adsorption of methyl orange. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 26(1), 657-666.
- Zhao, L., Szakas, T., Churley, M., Lucas, D. (2019). Multi-class multi-residue analysis of pesticides in edible oils by gas chromatography-tandem mass spectrometry using liquid-liquid extraction and enhanced matrix removal lipid cartridge cleanup. *Journal of Chromatography A*, 1584, 1-12.

## Referencias bibliográficas

Zhou, J., Sun, X., Jiao, J., Liu, M., Hu, F., Li, H. (2013). Dynamic changes of bacterial community under the influence of bacterial-feeding nematodes grazing in prometryne contaminated soil. *Applied Soil Ecology*, 64(1), 70-76.