

**UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
CAMPUS TUXTEPEC**

**ADSORCIÓN DE COLORANTES EN SOPORTES DE
QUITOSANOS DE CHAPULÍN Y CAMARÓN EN
SISTEMAS POR LOTE Y LECHO FIJO**

TESIS

**Para obtener el título de:
Ingeniero en Biotecnología**

**Presenta:
Felipe Alán Gómez Hernández**

**Director de tesis:
Dra. Jacqueline Capataz Tafur**

**Co- Director de tesis:
Dra. Maricarmen Thalía Recillas Mota**

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, 2018



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

CAMPUS TUXTEPEC

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la ciudad de San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, el día 20 de marzo de 2018 a las 11:00 hr, los miembros de la comisión revisora de tesis designada por la Jefatura de Carrera de la Ingeniería en Biotecnología se reunieron en la sala de juntas del Instituto de Biotecnología de la Universidad del Papaloapan, con la finalidad de examinar la tesis titulada "Adsorción de colorantes en soportes de quitosanos de chapulín y camarón en sistemas por lote y lecho fijo" presentada por el alumno Felipe Alán Gómez Hernández, con número de matrícula 11090012, aspirante al título de Licenciatura.

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la comisión manifestaron que la tesis **satisface** los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes, otorgando su **aprobación** para que el aspirante pueda proceder con el proceso de titulación.

Tuxtepec, Oaxaca, a 20 de marzo de 2018

ATENTAMENTE
LA COMISIÓN REVISORA

Dra. Jacqueline Capataz Tafur
Profesor Investigador Titular
Universidad del Papaloapan
Director de Tesis

Dra. Maricarmen Thalia Recillas Mota
Profesor Investigador
Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo
Co-Director de Tesis

Dra. María de Jesús García Gómez
Profesor Investigador Titular
Universidad del Papaloapan
Revisor de Tesis

Dr. Andrés Aguirre Cruz
Profesor Investigador Titular
Universidad del Papaloapan
Revisor de Tesis

Dr. Oscar Abelardo Ramírez Marroquín
Profesor Investigador Titular
Universidad del Papaloapan
Revisor de Tesis

Dra. Sandra Trinidad del Moral Ventura
Profesor Investigador Titular
Universidad del Papaloapan
Revisor de Tesis

Dr. Paul Mauricio Sánchez Ocampo
Profesor Investigador Titular
Universidad del Papaloapan
Revisor de Tesis



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

CAMPUS TUXTEPEC

Tuxtepec, Oaxaca, a 05 de abril de 2018
Oficio No. JCIB/003/04/2018

Lic. Yesenia Barrientos Arenal
Jefe de Servicios Escolares
Universidad del Papaloapan

Con base en el dictamen de la comisión revisora, se autoriza la impresión del trabajo de tesis del alumno **Felipe Alán Gómez Hernández** titulado "Adsorción de colorantes en soportes de quitosanos de chapulín y camarón en sistemas por lote y lecho fijo". Para ser presentado como trabajo de tesis para obtener el título de Licenciado en Ingeniería en Biotecnología, toda vez que cumple satisfactoriamente con la reglamentación establecida para tal fin.

El Jurado de Examen Profesional estará compuesto por los siguientes profesores:

Dra. María de Jesús García Gómez (Presidente).
Dr. Andrés Aguirre Cruz (Vocal).
Dr. Oscar Abelardo Ramírez Marroquín (Secretario).
Dra. Sandra Trinidad del Moral Ventura (Primer Suplente).
Dr. Paul Mauricio Sánchez Ocampo (Segundo Suplente).

Sin mas por el momento le envío un cordial saludo.

Atentamente
Terra uberrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chí jí jú



JEFATURA DE INGENIERIA
EN BIOTECNOLOGIA
CAMPUS TUXTEPEC

Dr. Julián Mario Peña Castro
Jefe de Carrera de Ingeniería en
Biotecnología
Universidad del Papaloapan



Vo.Bo. M.C. Héctor López Arizón
Vice Rector Académico
Universidad del Papaloapan
VICE-RECTORIA
ACADEMICA

c.c.p. Dr. Jacqueline Capataz Tafur. Director de tesis, Para su conocimiento
c.c.p. Felipe Alan Gómez Hernández, Alumno, Para su conocimiento
c.c.p. Archivo

DEDICATORIAS

A mis padres, Paula y Armando.

Por haberme educado y apoyado incondicionalmente, pues les debo todo lo que soy y me siento muy agradecido de tenerlos conmigo.

A mi hermana, Aris por procurarme desde que nací.

AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas que contribuyeron directa e indirectamente a la elaboración de la presente tesis.

A mi codirectora la **Dra. Maricarmen Thalía Recillas Mota**, porque para ella la distancia no fue un obstáculo para atender a cada una de mis dudas y guiarme durante la elaboración de este trabajo.

A mi Directora la **Dra. Jacqueline Capataz Tafur**, la dedicación y compromiso que tuvo con mi proyecto desde el instante en que se estableció su dirección.

A la **Dra. Laura Patricia Ramírez Coutiño**, por dirigir mi iniciativa en primera instancia, e instruirme en mis primeros años dentro de un laboratorio.

A mi sensei el **Dr. Oscar Núñez Gaona**, por ayudarme a ser disciplinado y motivarme a esforzarme cada vez más.

Y demás profesores que compartieron conmigo sus conocimientos y experiencias.

A **Graz** por acompañarme cada día y recordarme lo bello que es sonreír cada día y hacerme saber que siempre puedo contar con tu apoyo.

A “mis niñ@s”: **Keylita** gracias por hacerme sentir siempre en casa y tener siempre los brazos abiertos para mí. **Rosita** por cada instante compartido desde clases, laboratorio, estancia, películas, comidas y risas. **Antonio** que, aunque siempre peleamos siempre estamos ahí apoyándonos. Y **Adrián** por haberme enseñado un poco más de la vida. Gracias por todos esos grandes momentos que me regalaron durante toda mi experiencia universitaria, porque si hubo personas que influyeron en mi vida para formar mi carácter, fueron ustedes, los quiero niñ@s.

A **Crisanto**, siempre quise un hermano pequeño, no es lo que tenía en mente, pero estoy muy feliz por lo que me ha dado la vida, gracias broucito, por estar siempre dispuesto a brindarme su ayuda y demostrarme que puedo volver a creer.

A **Daniel** quien a pesar de llevar poco tiempo conviviendo, es como si lo conociera desde hace mucho, gracias por cada risa compartida, y las que faltan.

A **“la chikibanda”** por las memorables, recordables e irrecordables ocasiones de convivencia.

A los **“Perros de la tormenta”** por ayudarme a crecer como persona y compartir cada entrenamiento juntos.

A las **familias Hernández y Gómez** que de hacer un listado de ellos no sería breve, y amigos que me tienen presente, gracias por brindarme su cariño y palabras de aliento para lograr mis metas.

RECONOCIMIENTO

Esta tesis fue realizada en los Laboratorios de Bioprocesos y Cultivo de Células Vegetales de la Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec y en el Laboratorio de Biopolímeros del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD), Sede Hermosillo, Sonora, bajo la dirección de la Dra. Jacqueline Capataz Tafur y la Dra. Maricarmen Thalía Recillas Mota. Se contó con la valiosa asesoría de la Dra. Laura Patricia Ramírez Coutiño durante toda la investigación.

Se agradece al apoyo técnico e instrumental del grupo de Biopolímeros, Dr. Jaime Lizardi Mendoza, M.C. Karla Guadalupe Martínez Robinson, Q.B. Alma Consuelo Campa Mada, M.C. Luisa Lorena Francisca Silva Gutiérrez, M. C. Alfonso Martínez Borraz.

Asimismo, se contó con la beca de proyecto N° 169477-22688-1679 del proyecto CB-2011/169477 de abril a noviembre de 2015 siendo responsable del mismo la Dra. Laura Patricia Ramírez Coutiño.

ÍNDICE

LISTA DE TABLAS.....	xi
LISTA DE ANEXOS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiii
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
I. INTRODUCCIÓN.....	3
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Colorantes.....	4
2.1.1. Clasificación de colorantes	5
2.2. Contaminación por colorantes.....	7
2.2.1. Colorantes usados en laboratorios	8
2.2.2. Colorantes de estudio.....	10
2.3. Tratamientos para la eliminación de colorantes	10
2.3.1. Adsorción.....	11
2.3.2. Isotermas de adsorción	13
2.3.3. Modelos de adsorción.....	14
2.3.4. Matriz de adsorción	16
2.3.5. Adsorbentes	22
2.3.6. Quitina y quitosano	23
III. ANTECEDENTES	27
IV. JUSTIFICACIÓN	32
V. HIPÓTESIS	33
VI. OBJETIVOS	34
Objetivo general.....	34

Objetivos específicos	34
VII. METODOLOGÍA.....	35
7.1. Obtención de quitina	35
7.1.1. Desmineralización de quitina.....	35
7.1.2. Desproteínización de quitina.....	35
7.1.3. Despigmentación de quitina	36
7.2. Obtención de quitosanos.....	36
7.2.1. Desacetilación de quitina.....	36
7.2.2. Purificación de quitosanos.....	36
7.3. Caracterización fisicoquímica de las quitinas.....	37
7.4. Caracterización fisicoquímica de los quitosanos.....	37
7.4.1. Determinación del porcentaje de humedad	37
7.4.2. Determinación de proteínas.....	38
7.4.3. Determinación de extracto etéreo.....	38
7.4.4. Determinación de grado de desacetilación (DA)	39
7.5. Elaboración de criogeles de quitosanos.....	41
7.6. Caracterización de criogeles	42
7.6.1. Espectroscopia FTIR	42
7.6.2. Hinchamiento.....	42
7.6.3. Microscopía	43
7.7. Preparación de soluciones patrón de colorantes	43
7.7.1. Curvas de calibración	44
7.8. Cinéticas de adsorción.....	44
7.8.1. Cinéticas en sistema por lote.....	44
7.8.2. Determinación de modelos cinéticos	45

7.8.3. Cinéticas en lecho fijo.....	45
7.9. Análisis estadístico.....	46
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
8.1. Extracción y purificación de quitina.....	48
8.1.1. FTIR de quitina.....	51
8.2. Quitosano.....	52
8.2.1. Caracterización físico química de los quitosanos.....	52
8.3. Criogeles de Quitosanos.....	56
8.3.1. Espectroscopia FTIR de criogeles.....	56
8.3.2. Hinchamiento.....	57
8.4. Cinéticas de adsorción por lote.....	59
8.5. Adsorción en sistemas de lecho fijo.....	65
8.6. Microscopía.....	69
IX. CONCLUSIONES.....	74
X. PERSPECTIVAS.....	76
XI. BIBLIOGRAFÍA.....	77
XII. ANEXOS.....	88

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1. Clasificación de los colorantes.....</i>	<i>6</i>
<i>Figura 2. Sistemas de adsorción.....</i>	<i>11</i>
<i>Figura 3. Sistema de adsorción en lecho fijo.....</i>	<i>13</i>
<i>Figura 4. Clasificación de Brunauer de isothermas de adsorción.....</i>	<i>14</i>
<i>Figura 5. Espectro FTIR de quitosano.....</i>	<i>19</i>
<i>Figura 6. Diagrama del proceso de criogelificación.....</i>	<i>21</i>
<i>Figura 7. Estructura química de quitina y quitosano.....</i>	<i>24</i>
<i>Figura 8. Espectro IR característico de quitina y quitosano</i>	<i>25</i>
<i>Figura 12 Curva de valoración conductimétrica.</i>	<i>41</i>
<i>Figura 9. Diagrama de la colocación de las columnas de adsorción.....</i>	<i>46</i>
<i>Figura 10. Proceso de purificación de quitina.....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 11. Espectro FTIR de quitinas.....</i>	<i>51</i>
<i>Figura 13 Espectro FTIR de quitosanos.....</i>	<i>55</i>
<i>Figura 14. Comparación quitosano chapulín vs criogel chapulín $qs-C_5H_8O_2$</i>	<i>56</i>
<i>Figura 15. Comparación quitosano camarón vs criogel camarón $qs-C_5H_8O_2$.....</i>	<i>57</i>
<i>Figura 16. Perfil de hinchamiento de los criogeles de quitosanos.....</i>	<i>58</i>
<i>Figura 17. Cinéticas de adsorción de DNS en sistemas en lote.....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 18 Cinéticas de adsorción de ABC en sistemas en lote.....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 19. Prototipo de adsorción en lecho fijo</i>	<i>65</i>
<i>Figura 20. Cinéticas de adsorción de ABC en sistemas de lecho fijo.....</i>	<i>66</i>
<i>Figura 21. Cinéticas de adsorción de DNS en sistema de lecho fijo</i>	<i>67</i>
<i>Figura 22. Microscopia de quitosanos y criogeles secos</i>	<i>70</i>
<i>Figura 23. Microscopia del corte transversal de criogeles secos e hinchados</i>	<i>71</i>
<i>Figura 24. Microscopía del corte transversal del criogel de quitosano de chapulín durante el proceso de adsorción de ABC.....</i>	<i>73</i>

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Colorantes más usados en laboratorio	9
Tabla 2. Lista de modelos de sistemas de Adsorción	16
Tabla 3. Algunos agentes utilizados como entrecruzante en investigación.....	18
Tabla 4. Parámetros operacionales de Adsorción con quitosanos.....	29
Tabla 5. Rendimiento en la purificación de quitina	48
Tabla 6. Comparación del método de FTIR vs Valoración para determinar %DD.	53
Tabla 7. Características de los quitosanos obtenidos	53
Tabla 8. Ecuaciones resultantes de las cinéticas de adsorción en sistemas por lote	63
Tabla 9. Constantes para ajustar a modelos matemáticos.....	64
Tabla 10. Valor del parámetro RL según el modelo Langmuir	64
Tabla 11. Adsorción máxima alcanzada con criogeles de quitosano	68
Tabla 12. Tamaño de poro de los criogeles.	72

LISTA DE ANEXOS

<u>Anexo 1.- Curvas de calibración de colorantes.</u>	88
<u>Anexo 2. Gráficas de $1/q_e$ vs $1/C_e$ para determinar las constantes necesarias para los ajustes a isothermas de Langmuir y Freundlich.</u>	89
<u>Anexo 3.- Análisis de varianza de dos factores para el rendimiento en la extracción de quitina con un α de 0.05</u>	93
<u>Anexo 4.- Análisis de varianza y prueba de Tukey para la capacidad de Hinchamiento con un α de 0.05</u>	94
<u>Anexo 5- Análisis de varianza de la capacidad de adsorción de los hidrogeles (chapulín y camarón) en un sistema por lote con un α de 0.05.</u>	96
<u>Anexo 6- Análisis de varianza de la capacidad de adsorción de los hidrogeles (chapulín y camarón) en un sistema de lecho fijo para ABC con un α de 0.05.</u> ...	100
<u>Anexo 7- Análisis de varianza de la capacidad de adsorción de los hidrogeles (chapulín y camarón) en un sistema de lecho fijo para DNS con un α de 0.05.</u> ...	101
<u>Anexo 8- Análisis de varianza de la dimensión del poro de hidrogeles (chapulín y camarón) con un α de 0.05.</u>	102

LISTA DE ABREVIATURAS

ABC	Azul brillante de Comassie
AO10	Naranja ácido 10 (por sus siglas en inglés “Acid Orange”)
AO12	Naranja ácido 12 (por sus siglas en inglés “Acid Orange”)
AG25	Verde ácido 25 (por sus siglas en inglés “Acid Green”)
AM	Azul de metileno
AR18	Rojo ácido 18 (por sus siglas en inglés “Acid Red”)
AR73	Rojo ácido 73 (por sus siglas en inglés “Acid Red”)
C ₅ H ₈ O ₂	Glutaraldehído
Ch	Chapulín
Cam	Camarón
DA	Grado de acetilación (por sus siglas en inglés “Degree of acetylation”)
DD	Grado de desacetilación (por sus siglas en inglés “Degree of desacetylation”)
DNS	3,5-ácido dinitrosalicílico
DNS-Cl	Cloruro de dansilo
EPY	Epiclorhidrina
FTIR	Infrarrojo con transformada de Fourier e interferómetro (por sus siglas en inglés “Fourier transform infrared”)
Glc	Glucosamina
GlcNAc	<i>N</i> -acetilglucosamina
GPC	Cromatografía de permeación en gel (por sus siglas en inglés “Gel permeation chromatography”).
HAc	Ácido acético
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia (por sus siglas en inglés “High performance liquid chromatography”)
Meq	Miliequivalentes
MDI	Difenil Metil diisocianato
Mw	Peso molecular (por sus siglas en inglés “Molecular weight”)

NCT	Nanotubos de Carbono (por sus siglas en inglés “Carbon nanotubes”)
ppm	Partes por millón (m/L o mg/Kg)
Qn	Quitina
Qmax	Adsorción máxima
Qs	Quitosano
RMN	Resonancia magnética nuclear
RL	Parámetro de equilibrio o factor de separación
TTP	Tripolifosfato de sodio

RESUMEN

La contaminación del agua es un problema que aqueja a la sociedad actual, debido al gran número de desechos producido por la actividad humana, un ejemplo de ello son efluentes con colorantes. De los procesos utilizados para contrarrestar sus efectos, se encuentra la adsorción, que se ha ido diversificando para poder optimizar el proceso, en los avances de la misma se encuentra el uso de matrices macroporosas que favorecen el fenómeno de adsorción. Entre la gama de polímeros conocidos en la actualidad resultaron de particular interés la quitina y quitosano derivados de plagas o desechos no explotados en México. En este trabajo a partir de material quitinoso se extrajeron quitosanos proveniente de exoesqueleto de camarón y cutícula de chapulín, con un alto porcentaje de desacetilación a partir del cual fueron elaboradas matrices macroporosas por criogelificación, evaluándose su comportamiento en cinéticas de adsorción de colorantes aniónicos (azul brillante de Coomassie y ácido dinitrosalicílico) en un sistema por lote y columna de lecho fijo. Los criogeles con un porcentaje de desacetilación de $80.27 \pm 0.28\%$ para camarón y $80.26 \pm 0.32\%$ para chapulín entrecruzados con glutaraldehído ($C_5H_8O_2$) presentaron una mayor capacidad de adsorción a concentraciones de 20 mg/L para ambos colorantes. Se alcanzaron valores de absorción máxima en los criogeles del sistema por lote para ácido dinitrosalicílico (DNS) de 161.290 mg/g y azul brillante de Coomassie (ABC) de 196.078 mg/g; mientras que en sistema de columna fue de 377.533 mg/g y 767.839 mg/g para DNS y ABC, respectivamente. No encontrando diferencias en la capacidad de adsorción entre el quitosano de chapulín con respecto al quitosano de camarón.

ABSTRACT

The contamination of water is a problem that afflicts society today, due to the large number of waste produced by human activity, an example of this are effluents with dyes. Of the processes used to counteract its effects, is the adsorption, which has been diversified to optimize the process, in the progress of it is the use of macroporous matrices that favor the phenomenon of adsorption. Among the range of currently known polymers, chitin and chitosan derived from pests or waste not exploited in Mexico were of particular interest. In this work, chitosan extracted from shrimp exoskeleton and grasshopper cuticle was extracted from a chitinous material, with a high percentage of deacetylation, from which macroporous matrices were prepared by cryogelling, evaluating their behavior in anionic dye adsorption kinetics (Coomassie brilliant blue and dinitrosalicylic acid) in a batch system and fixed bed column. Cryogels with a deacetylation percentage of $80.27 \pm 0.28\%$ for shrimp and $80.26 \pm 0.32\%$ for grasshoppers cross-linked with glutaraldehyde ($C_5H_8O_2$) had a higher adsorption capacity at concentrations of 20 mg/L for both dyes. Maximum absorption values were reached in cryogels of the batch system for dinitrosalicylic acid (DNS) of 161.290 mg/g and Comassie brilliant blue (CBB) of 196.078 mg/g; while in the column system it was 377.533 mg/g and 767.839 mg/g for DNS and CBB, respectively. Not finding differences in the capacity of adsorption between the grasshopper chitosan with respect to the shrimp chitosan.

I. INTRODUCCIÓN

La presencia de colorantes disueltos en aguas residuales forma parte de la contaminación del agua, siendo un problema que aqueja a la sociedad actual.

Existen diferentes métodos para tratar efluentes con colorantes como lo son: métodos biológicos, coagulación por agentes químicos, ósmosis inversa y los métodos fisicoquímicos (Aguilar *et al.*, 2010). De estos últimos, la adsorción es uno de los procesos más utilizados para el tratamiento de aguas residuales, el cual involucra la remoción del colorante de la fase efluente a la superficie del adsorbente.

Dentro de los cuales el quitosano es comúnmente utilizado debido a su versatilidad en la formación de membranas, esponjas, geles, y su excelente potencial como agente quelante (Treybal *et al.*, 1988). La Universidad del Papaloapan, tiene al alcance dos fuentes de quitina la cual es precursora de quitosano, por un lado, los chapulines en Oaxaca; y por el otro, los desechos de las empacadoras de camarón pelado en el puerto de Alvarado, Veracruz.

Los chapulines forman parte de la gastronomía típica oaxaqueña, pero de muy bajo consumo y en el resto del país son considerados una plaga. Por su parte los exoesqueletos de camarón representan toneladas de desechos sólidos que son tiradas al mar. Por lo que ambas son consideradas fuentes viables para la extracción del polímero.

Considerando lo anterior el presente trabajo se enfoca en desarrollar un sistema de adsorción en columna, utilizando una matriz de quitosanos de crustáceo y una de insecto. Con columnas caracterizadas y evaluadas en su capacidad de retener las moléculas de colorantes presentes en soluciones acuosas y etanólicas, para ser considerado como una estrategia alterna en el tratamiento de los efluentes contaminados.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los contaminantes más comunes en el agua son: materia orgánica, hidrocarburos, metales pesados, así como los pigmentos derivados de la industria y la investigación. Algunos de estos contaminantes pueden ser degradados naturalmente, pero muchos otros no, lo que ha generado problemas de toxicidad para algunas especies.

2.1. Colorantes

Los colorantes y los pigmentos a menudo son confundidos o incluso se usan los términos de manera indiscriminada, sin embargo, son claramente diferentes en sus propiedades y especialmente en la forma en que se utilizan. Los colorantes y pigmentos se distinguen con base en sus características de solubilidad: esencialmente, los colorantes son solubles y los pigmentos son insolubles (Matteini y Moles, 2001).

Los colorantes se aplican casi invariablemente a los materiales textiles a partir de un medio acuoso, de modo que generalmente se requiere que estén disueltos en agua.

Con frecuencia, como es el caso por ejemplo con tintes ácidos, tintes directos, tintes catiónicos y tintes reactivos, se disuelven completamente y muy fácilmente en agua. Por otro lado, los pigmentos son materiales colorantes que son completamente insolubles en el medio en el que se incorporan.

Una distinción adicional entre colorantes y pigmentos es que mientras las moléculas de colorante están diseñadas para ser atraídas fuertemente a las moléculas del polímero que constituyen una fibra textil, las moléculas de pigmento no suelen presentar tal afinidad para su medio.

Sin embargo, las moléculas de pigmento se atraen fuertemente entre sí en su estructura de red cristalina sólida para resistir la disolución en disolventes (Christie, 2001).

Los colorantes generalmente tienen en su estructura compuestos aromáticos lo cual los hace muy estables y recalcitrantes.

2.1.1. Clasificación de colorantes

Existen diversas categorizaciones para los colorantes, de acuerdo con su estructura química, el método de aplicación o del soporte del sustrato utilizado. La referencia más importante a en la clasificación de colorantes y pigmentos es el Color Index, una publicación producida por la Sociedad de Tinteros y Coloristas (Society of Dyers and Colourists), Bradford, Inglaterra. Esta serie proporciona una lista completa de los colorantes y pigmentos comerciales conocidos y se actualiza periódicamente. A cada colorante se le da un nombre genérico, que incorpora su clase de aplicación, el tono y un número, que simplemente refleja el orden cronológico en el que los colorantes se introdujeron comercialmente.

En el método de clasificación química, los colorantes se agrupan de acuerdo con ciertas características químicas comunes. Los colorantes y pigmentos orgánicos más importantes, en orden decreciente de importancia, pertenecen a los azo (-N- -N-), carbonilo (C- -O) (incluyendo antraquinonas), ftalocianina, azufre, polimetina y nitrocompuestos.

Por otro lado, Barrios-Ziolo, *et al.*, (2015) clasificaron a los colorantes de acuerdo a su estructura y grupos funcionales (**Figura 1**) siendo un apartado especial aquellas moléculas que sufrieron algún cambio en su estructura que las llevó a ser insolubles, como los dispersos que pueden ser solubles temporalmente por introducción de grupos ácidos en su estructura.



Figura 1. Clasificación de los colorantes (Barrios-Ziolo, *et al.*, 2015).

Los colorantes Baño, son una importante clase de colorantes para la aplicación en las fibras celulósicas, son insolubles, se caracterizan por ser solubles en agua mediante un proceso de reducción química, posteriormente pueden aplicarse a la fibra.

También existe una amplia gama de aplicaciones no textiles para los colorantes, muchos de las cuales han surgido en los últimos años como resultado de los desarrollos en los sectores de la electrónica y la reprografía (Christie, 2001).

2.2. Contaminación por colorantes

La demanda social para descontaminar aguas provenientes de diversos orígenes ha impulsado la búsqueda de nuevas técnicas para la purificación (Domenech, *et al.* 2001).

La contaminación de efluentes por colorantes es una de las problemáticas más importante en las aguas residuales, es fácilmente detectable ya que provoca la obstrucción del paso de la luz en las superficies acuosas (Romero, 2011).

Los colorantes representan una gran fuente de contaminación, principalmente por sus aplicaciones en la industria textil. La importancia del color en el mercado radica en la mejora de la apariencia de los productos para el cliente; en la investigación son herramientas útiles y necesarias para realizar técnicas de biología molecular, celular, química analítica, entre otras (Christie, 2001).

Los laboratorios generan desechos de colorantes y pigmentos (Conesa, 2014) comúnmente son contenidos y enviados a empresas particulares para su disposición; en otros casos son incinerados para su posterior eliminación. En general, si no son tratados de manera correcta puede que su destino final sea el drenaje propiciando así contaminación del agua.

Por otro lado, su incineración provoca la liberación de gases tóxicos a la atmósfera, tales como CO₂, SO₂, HCl, NO_x, dioxinas y en algunos casos metales pesados, así como productos de combustión incompleta como CO, residuos sin quemar y hollín.(Conesa, 2014).

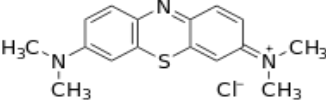
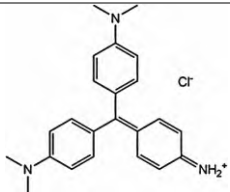
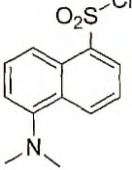
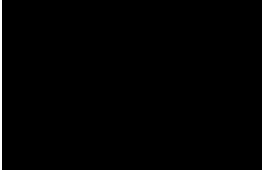
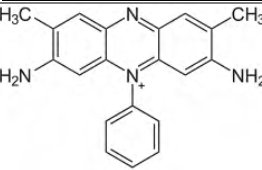
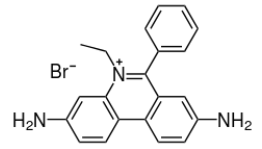
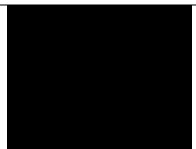

En la Universidad del Papaloapan se generan efluentes con colorantes en los diversos laboratorios de investigación, mismos que se remiten a la empresa ECONTAINER, SA, de C.V. ubicada en Ecatepec, Estado de México, perdiendo de esta manera la posibilidad de recuperación de los colorantes y su reutilización.

2.2.1. Colorantes usados en laboratorios

Un colorante es un compuesto químico que tiene la particularidad de emitir luz en un rango de longitud de onda en la región visible. En los laboratorios microbiológicos, moleculares y químicos se utilizan como una herramienta para determinaciones cualitativas y cuantitativas, ya que tienen propiedades que les permiten impregnar el objeto de estudio para una mejor apreciación del mismo o reaccionan ante ciertas condiciones de los experimentos sirviendo como señalizadores. En la **Tabla 1** se muestran algunos de los más utilizados en biotecnología.

Aunque los colorantes en su mayoría son de naturaleza sintética, aún son clasificados como ligandos por la afinidad que presentan al interactuar con los sitios activos de algunas proteínas debido a que imitan la estructura de sus sustratos, cofactores o agentes de unión, esta interacción puede ser electrostática, hidrófoba o por enlaces de hidrógeno (Denizli y Pişkin, 2001).

Tabla 1. Colorantes más usados en laboratorio

Colorante	Uso en el laboratorio	Estructura
Azul de metileno	Para la observación de microorganismos en un microscopio de campo claro la visibilidad es limitada debido a que las células son incoloras, es por ello que se realiza una tinción con este cromóforo (Aquiahuatl y Pérez, 2004).	
Cristal violeta	Usado en la tinción de Christian Gram para la clasificación de cultivos bacterianos (Aquiahuatl y Pérez 2004).	
Cloruro de dansilo (DNS-Cl)	es usado ampliamente para marcar proteínas, aprovechando su tiempo de vida favorable (~10 ns) y la excitación de estos grupos a 350 nm, donde las proteínas no absorben (Martínez y Moctezuma, 2006).	
Verde de malaquita	Se utiliza en tinción de esporas bacterianas (Aquiahuatl, 2004).	
Safranina	Un colorante secundario de la tinción de Christian Gram, pues tiñe los microorganismos decolorados que no retuvieron el cristal violeta, sin alterar el color de los ya teñidos (Aquiahuatl, 2004)	
Bromuro de etidio	Es un compuesto aromático y fluorescente usado en la biología molecular.	
Ácido dinitrosalicílico (DNS)	Es comúnmente usado en la determinación de azúcares reductores en los hidrolizados de biomasa (Arias, 2014)	
Azul brillante de Coomassie (ABC)	Su utilidad reside en ensayos de proteínas ya que tiñe las proteínas en electroforesis en gel y es muy sensible (SIGMA-ALDRICH®, s.f.)	

2.2.2. Colorantes de estudio

2.2.2.1. *Características del ácido 3-5 dinitrosalicílico (DNS)*

Polvo de color blanco o amarillo con estructura de acuerdo a su espectro infrarrojo, turbio en solución a 50 mg/mL a 25°C, en H₂O de claro a brumoso, de amarillo a amarillo oscuro. Este compuesto aromático reacciona con los azúcares reductores para propiciar la formación de ácido-3-amino-5-nitrosalicílico que absorbe la luz a 540 nm; posee un punto de fusión de 168-172°C, es soluble en agua, etanol, éter, dietílico y benceno (Alfa Aesar®, 2015)

2.2.2.2. *Características de azul brillante de Coomassie (ABC)*

El ABC también conocido como acid blue 90 es un polvo de color violeta oscuro, posee un peso molecular de 852 g/mol. El nivel de riesgo para el agua es de 1 ya que es escasamente peligroso, Se recomienda que en estado no diluido o no neutralizado no liberar al ambiente y en caso de vertido accidental se debe proceder a retener en un material adsorbente (Bio.Rad®, 2016).

2.3. Tratamientos para la eliminación de colorantes

Existen diferentes tratamientos utilizados para remover colorantes del agua, físicos como la adsorción y químicos como la descomposición por oxidación o fotodegradación (Martínez, 2012), pero estos últimos presentan algunas desventajas como elevados costos energéticos, así como la formación de subproductos como halogenuros, metales, ácidos y aldehídos o incluso algunos otros que pueden ser tóxicos o cancerígenos (Cortazar-Martínez *et al.*, 2012). Es por ello que la adsorción uno de los métodos más empleados por la ventaja que ofrece al retener gran cantidad de contaminantes (Romero-Ortíz *et al.*, 2011).

2.3.1. Adsorción

La adsorción es el proceso mediante el cual los solutos se concentran en una superficie sólida por la acción de fuerzas intermoleculares entre el soluto y la superficie del adsorbente. En un proceso de adsorción uno o más componentes ya sea líquido o gaseoso se adsorben en la superficie de un sólido, el fluido se hace pasar por un lecho y las partículas sólidas adsorben componentes del fluido cuando el lecho está casi saturado comienza una desorción (Geankoplis, 1998) (**Figura 2**).

La adsorción puede ser física si únicamente interactúan fuerzas de van der Waals, pero si el soluto realiza una reacción química con la superficie se dice que ocurre una adsorción química, pero al formar esta solo una monocapa puede ser evaluada como la adsorción física. Si se somete un sólido finamente cortado en una solución con colorantes se apreciará como disminuye la intensidad de su color, la magnitud de la interacción depende de la temperatura, la naturaleza del absorbato, el tamaño de las entradas en el adsorbente y la concentración del colorante principalmente (Tejeda *et al.*, 2011).

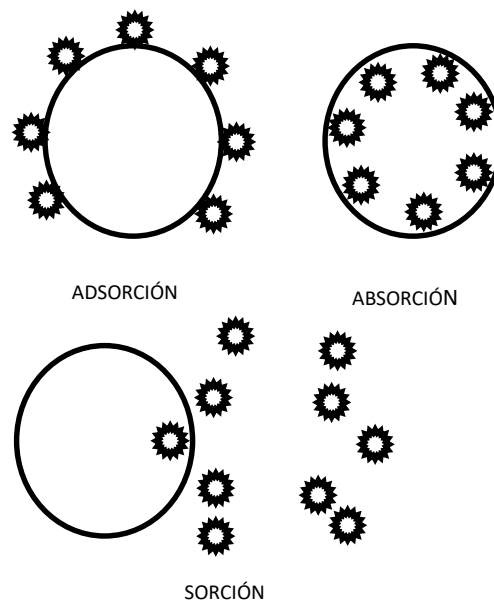


Figura 2. Sistemas de adsorción. (Geankoplis, 1998)

La biosorción es una técnica muy utilizada en procesos de biorremediación, y es considerada como una tecnología limpia para solucionar el problema de contaminación ambiental. Su estudio es aplicable en la recuperación de metales y para "remover" especies contaminantes o tóxicas en aguas de desecho industrial como lo pueden ser los colorantes. Este proceso consta de diferentes etapas: desde la colocación del colorante en la superficie del adsorbente, la difusión del colorante en la capa que rodea al adsorbente hacia la superficie del mismo, el transporte del colorante desde la superficie al interior de los poros y adsorción del colorante en los sitios activos de la superficie a través del intercambio iónico, la formación de complejos y/o la quelación (Gallardo *et al.*, 2014).

2.3.1.1. Cinética de adsorción

Para el desarrollo de un modelo de adsorción es necesario obtener la velocidad de adsorción o el tiempo necesario para alcanzar la separación soluto-solvente mediante el uso de coeficientes de transferencia de masa. La velocidad efectiva de la adsorción depende de las condiciones de operación del sistema, las cuales son el flujo, la presión, temperatura y composición tanto del adsorbato como del adsorbente, además de considerar la configuración y dimensiones del sistema si es por lotes, en columna entre otros (Tejeda *et al.*, 2011).

2.3.1.2. Adsorción en lecho fijo

Un sistema de gran auge en el área de proceso es el uso de columnas empacadas para ser utilizadas como reactores catalíticos en lecho, adsorción de solutos, o sistema de filtración, etcétera es la denominada adsorción en lecho fijo (Geankoplis, 1998).

Este tipo de sistema la adsorción se efectúa en columnas empacadas con adsorbentes, por la parte superior de la columna se alimenta la solución que contiene el soluto de interés, durante el proceso el soluto es adsorbido en el lecho

(fase solida) y la solución agotada es obtenida a la salida de la misma (Tejeda *et al.*, 2011) como se muestra en la **Figura 3**, donde Z es la altura del lecho y C_A es la concentración del soluto de interés, que es dependiente del tiempo transcurrido y la altura del lecho.

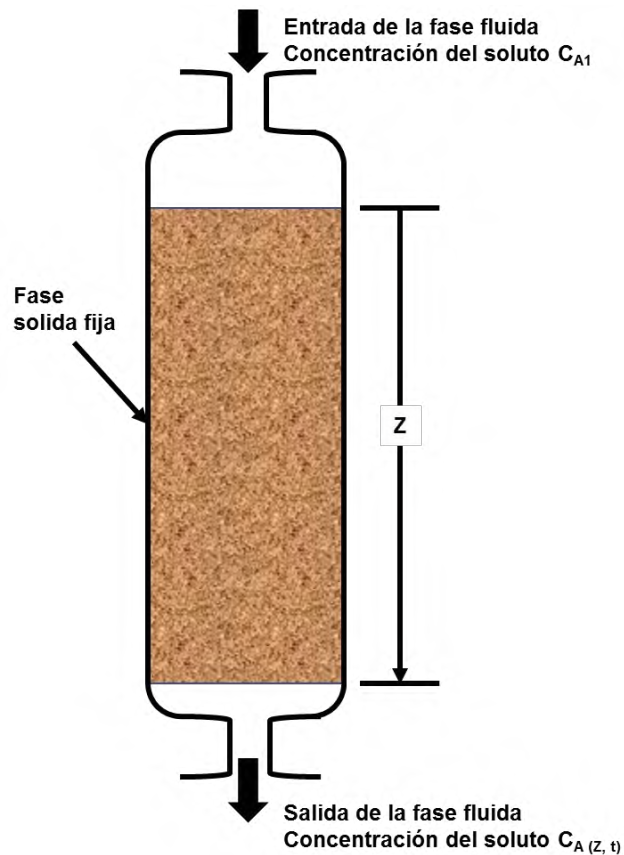


Figura 3. Sistema de adsorción en lecho fijo. (Birt *et al.*, 2006)

2.3.2. Isotermas de adsorción

Existen cinco tipos de isotermas las cuales describen las gráficas de la **Figura 4**: Tipo I: isoterma de Langmuir; Tipo II: isoterma Sigmoide; Tipo III: isoterma de Flory- Huggings; Tipo IV; Tipo V: isoterma Brunauer Emmett y Teller. las isotermas del tipo I y II han sido utilizadas para representar la adsorción en quitosanos (Rosas., 1999).

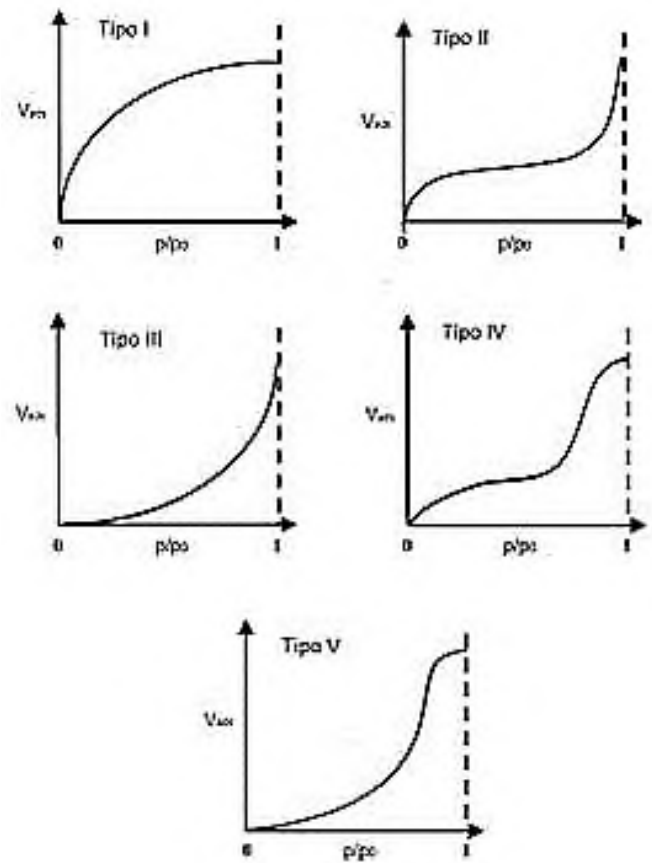


Figura 4. Clasificación de Brunauer de isothermas de adsorción. (Rosas, 1999)

2.3.3. Modelos de adsorción

Para el análisis de la adsorción es necesaria la formulación de modelos que contemplen las relaciones de equilibrio y la capacidad de adsorción de los sistemas, la rapidez de adsorción con respecto a los fenómenos difusivos y cinéticos de la superficie, los balances de masa y energía en el sistema específico, así como las condiciones iniciales y de frontera del sistema (Tejeda *et al.*, 2011).

Existen modelos matemáticos que describen y ayudan a interpretar lo que sucede en el sistema, siendo los más comunes los mostrados en la **Tabla 2**.

Los más utilizados para describir el comportamiento de adsorción en quitosano son las isothermas de Langmuir y Freundlich, el primero se basa en la suposición de la formación de una monocapa en la superficie asumiendo que la adsorción se lleva a cabo en sitios específicos del adsorbente, el segundo describe sistemas heterogéneos.

Debido a las limitantes que presentan ambos sistemas, en el caso de Langmuir es la más acertada si se describen sistemas monocapa mientras que la de Freundlich tiende a fallar con sistemas a altas concentraciones.

Existen otros modelos como la isoterma de Redlich-Peterson (**Ecuación 1**), que combina elementos tanto de Langmuir como de Freundlich describiendo una adsorción no ideal (Wong *et al.*, 2003).

$$q_e = \frac{K_R C_e}{1 + a_R C_e^\beta} \dots (1)$$

La constante de Langmuir permite calcular el parámetro R_L que indica cuan favorecida se encuentra la adsorción, este parámetro se calcula con la **Ecuación 2**.

$$R_L = \frac{1}{1 + b * C_0} \dots (2)$$

Donde C_0 corresponde a la concentración inicial en mg/L. Los tipos de adsorción según el valor del parámetro R_L son: $R_L > 1$ desfavorable, $0 < R_L < 1$ favorable, $R_L = 1$ irreversible y $R_L = 0$ lineal.

Con el modelo de Freundlich el factor n debe encontrarse en el rango de 1 a 10 para que el proceso de adsorción resulte favorable (Gallardo *et al.*, 2008)

Tabla 2. Lista de modelos de sistemas de Adsorción (Foo y Hameed, 2010).

Isoterma	Forma No Lineal	Forma Lineal	Gráfico
Langmuir	$q_e = \frac{Q_0 b C_e}{1 + b C_e}$	$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{b Q_0} + \frac{C_e}{Q_0}$ $\frac{1}{q_e} = \frac{1}{Q_0} + \frac{1}{b Q_0 C_e}$ $q_e = Q_0 + \frac{q_e}{b C_e}$ $\frac{q_e}{C_e} = b Q_0 + b \frac{C_e}{Q_0} q_e$	$\frac{C_e}{q_e} vs C_e$ $\frac{1}{q_e} vs \frac{1}{C_e}$ $q_e vs \frac{q_e}{b C_e}$ $\frac{q_e}{C_e} vs q_e$
Freundlich	$q_e = K_F C_e^{1/n}$	$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \ln C_e$	$\log q_e vs \log C_e$
Dubinin-Radushkevich	$q_e = (q_s) \exp(-k_{ad} \varepsilon^2)$	$\ln(q_e) = \ln(q_s) - k_{ad} \varepsilon^2$	$\ln(q_e) vs \varepsilon^2$
Temkin	$q_e = \frac{RT}{b_T} \ln A_T C_e$	$q_e = \frac{RT}{b_T} \ln A_T + \frac{RT}{b_T} \ln C_e$	$q_e vs \ln C_e$
Flory-Huggins	$\frac{\theta}{C_0} = K_{FH} (1 - \theta)^{n_{FH}}$	$\ln \frac{\theta}{C_0} = \log(K_{FH}) + n_{FH} \log(\theta - 1)$	$\ln \frac{\theta}{C_0} vs \log(\theta - 1)$
Hill	$q_e = \frac{q_{SH} C_e^{n_H}}{K_D + C_e^{n_H}}$	$\log \left(\frac{q_e}{q_{SH} - q_e} \right) = n_H \log(C_e) - \log(KD)$	$\log \left(\frac{q_e}{q_{SH} - q_e} \right) vs \log(C_e)$

2.3.4. Matriz de adsorción

Actualmente se han desarrollado una variedad de adsorbentes dentro de los cuales destacan el carbón activado (vegetal) y la sílica gel como adsorbentes físicos; zeolitas, poliacrilamida, polimetacrilato y poliestireno devinilbenceno como adsorbentes iónicos; agarosa entrecruzada con sefarosa, dextrano (Sephadex) y celulosa como adsorbentes hidrofóbicos; así como poliacrilamida Sephadex y sefarosa como adsorbentes de afinidad (Tejeda *et al*, 2011). Cuyas principales

características son: insolubilidad, permeabilidad y elevada área específica, así como rigidez.

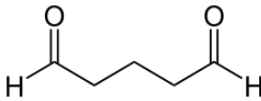
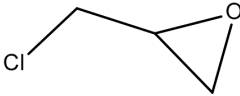
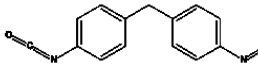
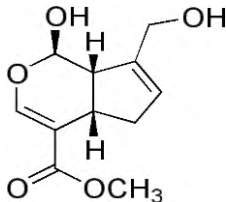
Las especificaciones esenciales que se buscan en una matriz es que presente buenas propiedades mecánicas, alta resistencia química y térmica, presencia de grupos funcionales reactivos para la inmovilización de ligandos para su compatibilidad y que posea una permeabilidad adecuada, un costo adecuado y últimamente biodegradabilidad del material, así como que sea de naturaleza inerte.

2.3.4.1. Entrecruzamiento

Los hidrogeles están constituidos por cadenas de polímeros lineales que se unen entre sí gracias a moléculas denominadas agente entrecruzante. El entrecruzamiento involucra dos unidades, las cuales pueden o no pertenecer a la misma cadena polimérica que tienden a establecer enlaces covalentes (García-González *et al.*, 2014).

Los entrecruzamientos y los puntos de ramificación en una matriz polimérica son uniones reales entre dos o más segmentos de cadenas, para que exista una estabilidad de las mismas es necesario el uso de algún agente entrecruzante el cual puede presentar enlaces covalentes, cargas complejas, puentes de hidrógeno, fuerzas de van der Waals o interacciones hidrofóbicas (García-González *et al.*, 2014) algunos de ellos se muestran en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Algunos agentes utilizados como entrecruzante en investigación

Solución	Descripción	Estructura
Glutaraldehído (C₅H₈O₂)	Las soluciones de glutaraldehído se encuentran en proporciones desde 20 a 50% disueltas en agua o etanol, formando un líquido transparente con un pH de 3.1 a 4.5. Su fórmula molecular es C ₅ H ₈ O ₂ y tiene un peso molecular de 100.12 g/mol, es estable a temperaturas y presión normales y es incompatible con bases fuertes (TRANSMERQUIM, 2013).	
Epiclorhidrina (EPY)	La EPY es un líquido incoloro con un olor picante y similar al ajo que es insoluble en agua, pero miscible con la mayoría de los disolventes orgánicos polares. Es un compuesto altamente reactivo con ácidos y bases fuertes. (Consejo de sanidad, 2008)	
Difenil Metil diisocianato (MDI)	El MDI es un miembro de la familia de los isocianatos asociado con la química del poliuretano, en su producción involucra una anilina condensada con formaldehído la cual reacciona con Fosgeno para formar el MDI. (Manual del poliuretano, www.ridsso.com .)	
Genipina	La genipina surge como una alternativa de los agentes entrecruzantes debido a su compatibilidad y ausencia de toxicidad. Este reactivo de origen natural es una aglucona de la geniposida. (Santomi, 2007)	

Beppu *et al.*, (2007) verificaron la presencia del entrecruzante en sus mezclas finales, haciendo uso de técnicas espectrofotométricas, el espectro quitosano-glutaraldehído se muestra en la **Figura 5**. donde se aprecia el entrecruzamiento en (b), poniendo atención en bandas características que sufren modificaciones, tales como la absorción a 1655 cm^{-1} de los enlaces imina $\text{N}=\text{C}$ y el estiramiento de $\text{C}-\text{H}$ cerca de 2936 cm^{-1} además de la presencia de un grupo amino alifático en un pico cerca de 1100 cm^{-1}

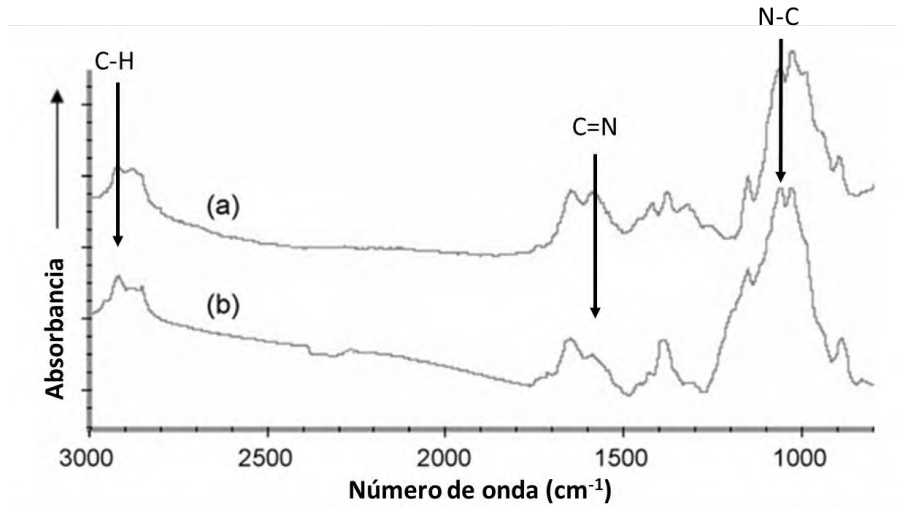


Figura 5. Espectro FTIR de quitosano a) original b) entrecruzado con glutaraldehído (Beppu *et al.*, 2007).

2.3.4.1.1. Características del glutaraldehído (C₅H₈O₂)

Se eligió el entrecruzante C₅H₈O₂ por su amplio uso en la inmovilización de proteínas y el entrecruzamiento de moléculas con grupos amino, considerado una forma económica y eficiente para realizar la fijación de estructuras (Beppu *et al.*, 2007) así como sus propiedades bactericidas, no interacciona con metales, gomas o plásticos las soluciones de glutaraldehído son más estables a valores de pH entre 3 y 6.3.

2.3.4.2. Gel

Se puede definir como una red tridimensional con cadenas flexibles construida por segmentos conectados que forman una estructura polimérica entrecruzada, hinchada por la acción de un líquido, permaneciendo insoluble sin perder la forma original, cuando éste se somete a secado se obtiene una estructura cristalina denominada xerogel (Pinzón *et al.*, 2002).

Los geles pueden clasificarse en físicos o químicos de acuerdo al tipo de enlace que se forma durante su preparación. Tomando en cuenta el disolvente en el que se hincha, si es orgánico entonces recibe el nombre de organogel, mientras que si el responsable de la solvatación es agua se denomina hidrogel (Amashta *et al.*, 2005).

Las matrices poliméricas solvatadas incrementan su volumen hasta alcanzar el equilibrio fisicoquímico, entre el solvente y la red polimérica, este equilibrio depende, en buena parte al entrecruzamiento (físico o químico) de las cadenas de polímero individuales. Cuando se encuentran completamente hinchados muestran un comportamiento mecánico viscoelástico, intermedio entre los sólidos y líquidos.

2.3.4.3. Aerogel

Los aerogeles, son geles secos con una porosidad muy alta, y se diferencian de los xerogeles por la forma en que son secados, mientras que el xerogel (hidrogel seco) se seca por evaporación a un aerogel se le aplica un secado supercrítico que le permite mantener la estructura porosa de la fase húmeda ganando con eso una densidad baja y un área superficial elevada (Baetens *et al* 2010).

2.3.4.4. Hidrogel

Los hidrogeles son redes tridimensionales hidrofílicas que al entrar en contacto con agua comienzan a adsorberla en la matriz, hasta llegar al equilibrio, poseen la capacidad de absorber varias veces su peso en agua.

Pueden obtenerse por polimerización y entrecruzamiento simultáneo de uno o varios monómeros mono o polifuncionales, o bien por el entrecruzamiento de cadenas poliméricas.

Las características de estos monómeros y el grado de entrecruzamiento determinan las propiedades de hinchamiento del xerogel y por tanto sus posibles aplicaciones.

Los hidrogeles son insolubles (gracias a los sitios de entrecruzamiento a red polimérica), hidrofílicos (debido a la presencia de grupos funcionales como: OH, COOH, CONH, etc.), blandos, elásticos y con capacidad de hinchamiento. Los hidrogeles químicos son redes tridimensionales formadas por la unión covalente de las cadenas de polímeros existentes en un sistema (Velásquez, 2003).

2.3.4.5. Criogel

Se le denomina criogel a aquellas matrices poliméricas formadas mediante un proceso de polimerización a temperaturas bajo cero, la formación de estos constan de dos etapas: la creación a través de una congelación moderada (donde sucede un fenómeno de entrecruzamiento forzado) y la descongelación del material como se muestra en la **Figura 6** (Muñoz, 2002).

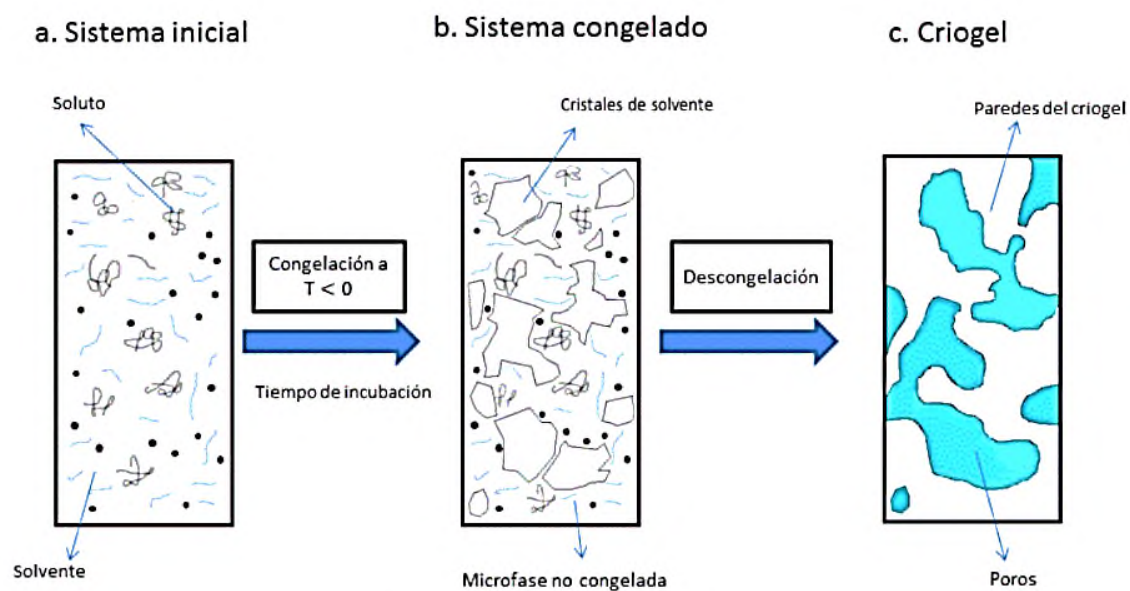


Figura 6. Diagrama del proceso de criogelificación. (Muñoz, 2012)

Se trata de un sistema no homogéneo donde el polímero y el entrecruzante se encuentran en una micro-fase líquida no congelada con una cantidad pequeña del solvente, favoreciendo así la reacción, lo que se conoce como un proceso de gelificación criotrópica que da como resultado geles macroporosos en donde el agente entrecruzante evita el colapso de la estructura (Lozinsky, 2002).

Estos materiales son preparados en condiciones de -10°C a -20°C , es decir, a una temperatura donde el solvente se encuentra parcialmente congelado. Esto crea un ambiente propicio para la formación de una mayor cantidad de partículas porógenas, las cuales son pequeños cristales de hielo que influyen en la formación de macroporos con paredes delgadas generando así un material en la red tridimensional más concentrado (Lozinsky, 2002).

Hay dos formas de sintetizar criogeles covalentes, una es por criopolimerización ramificada y la otra por entrecruzamiento químico; en donde el tamaño y la geometría de los poros dependen de las propiedades y concentraciones de los precursores de la reacción (Ivanov *et al.*, 2007).

2.3.5. Adsorbentes

Los adsorbentes son clasificados en: a) Arcillas, son económicas, pero poco usadas por poseer una baja superficie de adsorción. b) Poliméricos que presentan una gran superficie de adsorción. c) Carbones activados, que son los más utilizados por ser los de más bajo costo (Ortega *et al.*, 2011).

El consumo de fuentes renovables ha llevado a la búsqueda de materiales adsorbentes que no presenten un riesgo para la naturaleza es por ello que la quitina y sus derivados son de particular interés.

2.3.6. Quitina y quitosano

Entre los materiales naturales de importancia en la actualidad se encuentra una pareja de polisacáridos que ha tomado mucho auge por la infinidad de aplicaciones que pueden tener, especialmente, por su bajo impacto ambiental, es así como a la quitina y el quitosano se les considera biopolímeros no tóxicos, biocompatibles y biodegradables.

La quitina, es un polímero compuesto por unidades de *N*-acetilglucosamina (GlcNAc) unidos por enlaces β -1,4. Se encuentra distribuida ampliamente en la naturaleza y, después de la celulosa, es el polisacárido en mayor abundancia. Sus fuentes principales son el exoesqueleto de artrópodos, paredes celulares de hongos, algas, etc., donde su principal función dentro del organismo es de protección, debido a la rigidez y cristalinidad del polímero, especialmente el isómero α .

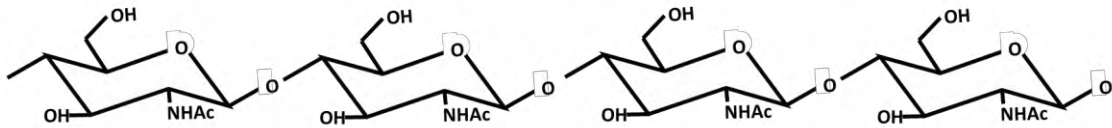
La producción industrial de este biomaterial prácticamente se basa en el tratamiento de las conchas de diversos tipos de crustáceos (camarones, langostas, cangrejos y krill) y para purificarla se somete a procesos capaces de retirar la proteína como un tratamiento con hidróxido de sodio o enzimas (papaína, tripsina, pepsina) además de retirar los minerales generalmente con ácido clorhídrico.

Por su parte, el quitosano puede ser considerado como un heteropolímero constituido de unidades de GlcNAc y glucosamina (Glc), se puede encontrar de forma natural en las paredes celulares de algunas plantas y hongos, por ejemplo, en *Mucor rouxii*. Sin embargo, la fuente más importante de quitosano, a nivel industrial, la constituye la quitina, para ello ésta se somete a una desacetilación por vía química o enzimática (Lárez-Velásquez y Velásquez, 2006).

2.3.6.1. Diferencias entre quitina y quitosano

Las estructuras químicas de quitina y quitosano se muestran en la **Figura 7** donde se puede apreciar que la diferencia principal entre ellos radica en el carbono número 2.

Quitina



Quitosano

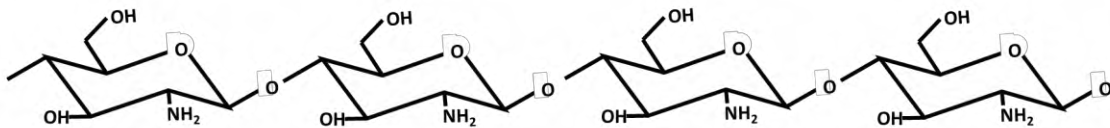


Figura 7. Estructura química de quitina y quitosano (Hengameh y Mehdi , 2009).

Cuando el grado de desacetilación (DD, degree of deacetylation, por sus siglas en inglés) de la quitina alcanza aproximadamente 50% (en función del origen del polímero), se vuelve soluble en un medio ácido acuoso, el cual es un importante factor estructural que influye sobre muchas propiedades fisicoquímicas, tales como la solubilidad, el acceso de las enzimas, reactividad y procesabilidad. Por tanto el DD y DA (degree of acetylation), deben determinarse para elucidar la relación estructura/propiedad en quitosanos y para evaluar las potenciales aplicaciones (Muzzarelli, 2011).

Las diferencias se pueden apreciar mediante un espectro infrarrojo, mismo que se muestran en la **Figura 8** donde se pueden apreciar las bandas correspondientes a los grupos funcionales característicos de cada uno. Siendo los que más se modifican los correspondientes a los enlaces OH y NH cerca de la región de 3448

cm^{-1} y 3269 cm^{-1} respectivamente. Así como el doble enlace del carbonilo perteneciente a grupos acetilos en la región 1674 cm^{-1} .

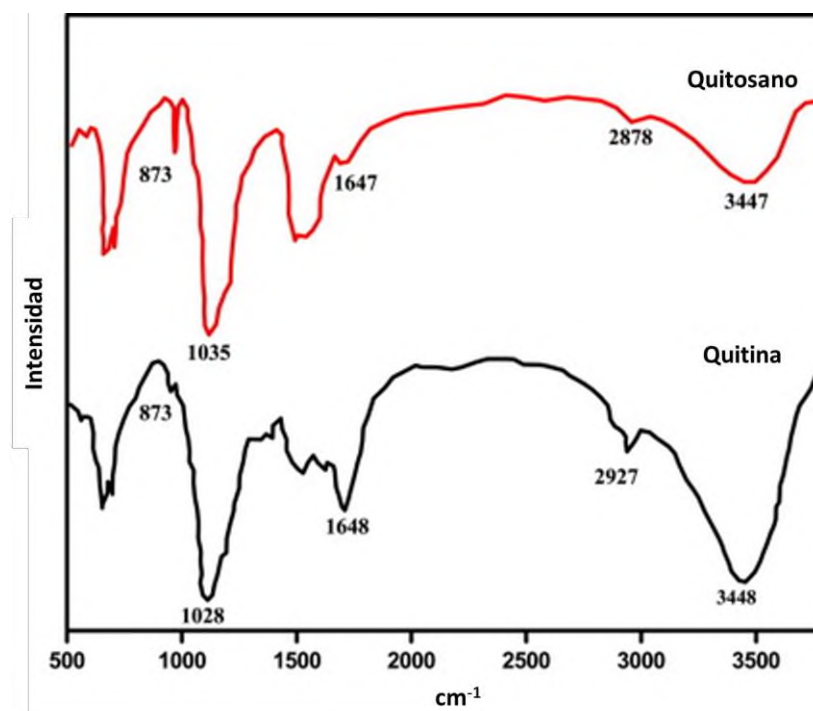


Figura 8. Espectro IR característico de quitina y quitosano (Kumari *et al.*, 2015)

2.3.6.2. Obtención de quitosanos

La solubilización del polímero se produce por la protonación de los grupos funcionales amino ($-\text{NH}_2 \rightarrow -\text{NH}_3$) en la posición C-2 de la unidad de D-glucosamina, mediante el cual el polisacárido se convierte en un polication en medios ácidos. La solubilidad debida a la presencia de grupos $-\text{NH}_2$ en el quitosano es la razón por la que exhibe un potencial mucho mayor en comparación con la quitina para su uso en diferentes áreas.

2.3.6.2.1. Desacetilación

Es el proceso por el cual se retiran los grupos acetilo en la molécula de NAG aplicando un tratamiento en donde se somete al polímero a altas concentraciones de álcali, teniendo dos variantes, la denominada alcalina homogénea que se realiza a temperatura ambiente y la alcalina heterogénea donde se somete la reacción a temperaturas que van de 90 a 100 grados acelerando la misma.

2.3.6.3. Aplicaciones de los quitosanos

Los quitosanos tienen una amplia gama de aplicaciones que aprovechan sus propiedades, por ejemplo:

- 1) su capacidad de formar membranas, para recubrimientos, o como vehículo portador de fármacos para su liberación controlada y otras aplicaciones farmacéuticas
- 2) su propiedad de formar hidrogeles, útiles como adsorbentes por ejemplo en el tratamiento de aguas, ya que ha mostrado un alto potencial para la absorción de colorantes, iones metálicos y proteínas.

En la industria alimentaria, tanto la quitina como el quitosano han sido considerados polímeros con potencial uso como alimento funcional, como aditivos alimentarios y nutracéuticos ya que el cuerpo humano no puede degradarlos debido a su carencia de enzimas quitinasas, y debido a esto, se les ha visto como una fibra dietética (Shahidi *et al.*, 1999).

En la industria cosmética se da importancia y uso a la propiedad fungicida del quitosano, además de su solvencia en ácidos orgánicos.

en la fotografía se aprovechan tanto su capacidad para formar películas visiblemente deseables y resistentes a la abrasión. Puesto que tiene tantos grupos

hidroxilo y amino, puede ser modificado químicamente en muchas formas y puede participar en diferentes tipos de reacciones químicas (Kumar, 2000).

El grado de polimerización y peso molecular son variables que deben de tomarse en cuenta para una completa caracterización de estas biomoléculas. Del mismo modo, el contabilizar el número de oligómeros presentes en mezclas de quitosano despolimerizado es sumamente importante, pues de ello dependen las aplicaciones que pueden asignarse a la muestra.

Para su determinación convencional son usadas las técnicas de HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia por sus siglas en ingles) y GPC (cromatografía de permeación en gel). Además de la RMN (resonancia magnética nuclear). El peso molecular (Mw), se puede evaluar mediante la viscosidad intrínseca (Ramírez Coutiño, 2009).

2.3.6.4. Adsorción en quitosano

El quitosano tiene alta afinidad por iones metálicos sobre todo metales pesados de las series de transición (no así metales alcalinos y alcalinos térreos), lo cual se debe al alto contenido de grupos amino que ubicados en la posición 2 de los anillos glucosídicos, actúan como amina primaria y desarrolla una acción más libre y efectiva del par de electrones no apareados, a diferencia de la quitina, amina secundaria, de menor capacidad por el efecto estérico del grupo acetilo y el aumento de electronegatividad del átomo de nitrógeno respecto a su par de electrones.

El entrecruzamiento químico utilizando glutaraldehído permite formar estructuras estables a cualquier pH y mayor resistencia mecánica a la fricción, por agitación en procesos por lotes o si está empacado en la columna de un proceso continuo, permitiendo además mayor accesibilidad del soluto a los sitios de adsorción (Flores *et al.*, 2013).

Adsorbentes a base de quitosano han mostrado capacidades relativamente altas de adsorción en metales pesados (mg del metal/g de adsorbente), debido a su elevado contenido de nitrógeno y porosidad. A través de los años se han desarrollado una serie de modificaciones físicas y químicas, que le ha conferido mejor calidad, capacidad y selectividad adsorbente (Navarro *et al*, 2010).

Los grupos OH y NH₂ se pueden utilizar para reacciones de modificación química, esterificación, condensación y otras. En los procesos de recuperación de metales, los procedimientos convencionales, tales como extracción con disolventes, precipitación, intercambio iónico o resinas quelantes y tecnologías de membrana, con frecuencia no alcanzan niveles adecuados para la de descarga final (Krishnapriya y Kandaswamy, 2010).

El quitosano no solo presenta afinidad a metales pesados, debido a las propiedades anteriormente mencionadas es considerado un buen adsorbente de materiales como pigmentos y proteínas, pudiendo ser un buen candidato para la eliminación de contaminantes de agua y aguas residuales (Honarkar y Barikani, 2009).

III. ANTECEDENTES

Actualmente existen distintos tratamientos para aguas residuales contaminadas con colorantes, entre los procesos más usados se encuentran: coagulación química, tratamiento biológico, oxidación electroquímica, ozonización, adsorción con carbón activado, ultrafiltración y electrocoagulación. En el tratamiento de este tipo de efluentes cuando es utilizado un solo método, pocos son los casos reportados como totalmente exitosos, como consecuencia de esto, en el tratamiento de aguas residuales con colorantes se usa una combinación de diferentes procesos para así obtener agua de la calidad deseada a un costo moderado. Además, la eliminación de trazas de colorantes es difícil y representan un alto costo. Entre las técnicas fisicoquímicas de eliminación de colorantes, la adsorción es un método muy utilizado por su diseño simple, fácil operación, flexibilidad (Donato *et al.*, 2013).

Una variante de la adsorción, es la biosorción, que consiste en la retención de solutos en un material de origen biológico (como los biopolímeros) y puede ser descrito por modelos matemáticos adecuados, lo que permitiría su escalamiento y optimización (Flores *et al.*, 2013).

Dentro de los biopolímeros que son más estudiados se encuentran la celulosa y la quitina por ser los más abundantes en la naturaleza, el primero lo podemos encontrar en la pared celular de las plantas, mientras que la quitina puede ser extraída de exoesqueleto de crustáceos y cutículas de insectos (Pacheco, 2010).

En el Estado de Oaxaca, el chapulín es aprovechado dentro de la dieta de los zapotecas y mixtecos, y es considerado como un platillo exótico para el resto del mundo. A pesar de ello, el mercado es escaso. En el resto del país está considerado como una plaga recurrente y de amplia distribución en todo el territorio mexicano, se encuentra presente en gran parte del territorio nacional causando pérdidas a la agricultura que van desde un 50 al 60% en cultivos,

atacando principalmente los cultivos de frijol, maíz y del 30 a 40% en pastizales (SENASICA, 2015).

Por otro lado, México ocupa el noveno lugar de producción de camarón a nivel mundial. La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) reportó para el año 2016 una producción de 211, 096 ton. El proceso de acondicionamiento de camarón para ser enviado a consumo, comprende el descabezado y pelado del organismo, lo que hace factible el empleo de estos residuos para la obtención de materiales quitinosos.

El quitosano es considerado un biosorbente que posee una capacidad y alta tasa de adsorción además de presentar elevada afinidad para distintas variedades de colorantes, su versatilidad para ser usado en forma de películas, fibras, esponjas, geles , perlas, nanopartículas y soportado sobre materiales inertes le han conferido una amplia variedad en aplicaciones (Crini y Badot, 2008).

La **Tabla 4** enlista algunos trabajos y las condiciones en que se procedió a adsorber colorantes con quitosanos. En alguno de ellos, la solución de quitosano fue puesta en contacto con el colorante durante un tiempo determinado en sistemas batch con agitación. Se muestran casos donde se ocupó el quitosano en escamas de diferentes fuentes hasta aquellos donde se elaboraron hidrogeles en forma esférica utilizando algún entrecruzante.

Dependiendo de la fuente de quitina las propiedades de adsorción del quitosano variarían, así como su comportamiento en solución, ya que el origen de la quitina influye en su cristalinidad, pureza, cadenas poliméricas y arreglo, es por ello que su clasificación se realiza en cuanto a pureza y color, ya que se encuentran en los productos finales proteínas y pigmentos (Crini y Badot, 2008). Hasta donde se sabe, no existen antecedentes del uso de quitosano de chapulín para este tipo de sistemas. La proteína covalentemente unida al exoesqueleto del camarón puede constituir hasta el 50% de la masa del exoesqueleto, y es retirada, principalmente,

mediante cambios de pH (Partida y Aranda, 2013). En productos comerciales (quitina y quitosano de camarón), se sabe que existe un contenido considerable de proteína residual, esto acorde a investigaciones del grupo de trabajo.

Tabla 4. **Parámetros operacionales de Adsorción con quitosanos**

Quitosano (Qs)	Parámetros operacionales					Referencia
	[Qs]	pH	Colorante	Caudal o rpm	t (h)	
Bastones de Qs y Qs zeolita	Qs 3.2% (m/m)	7	Azul de metileno	1 y 3 mL/min	100	(Treybal <i>et al.</i> , 1988)
Qs GD >85% en perlas entrecruzadas con TPP	10g/300 cm ³	6	colorante comercial RR 189	--	120	(Chiou y Li, 2003)
Qs de cangrejo en solución	0.2g/0.12L +0.1L de muestra	4	Colorantes ácidos; AO10, AO12, AR18, AR73, AG25	200rpm	24	(Wong <i>et al.</i> , 2004)
Qs reticulado con C ₅ H ₈ O ₂	5g Qs + 75ml Glu 2.5%	4	Cu(IV)	250 rpm	96	(Rojas <i>et al.</i> , 2005)
Perlas de Qs y polvo	1/25 (p/v)	5.3	Cu(II)	--	10	(Flores J. <i>et al.</i> , 2005).
Solución acuosa de Qs	1% (m/v)	6.7, 8.5, 9.5	Remazol negro 13	--	24	(Gurusamy <i>et al.</i> , 2008)
Qs de camarón, langostas y cangrejo. En escamas	0.48g/0.8dm ³	5.3	Sumifix Super Scarlet 2GF	500 rpm	5	(Wu <i>et al.</i> , 2009)
Perlas de Qs impregnadas con NCT	1% (m/v)	5	Rojo congo	150 rpm	16	(Chatterjee <i>et al.</i> , 2009)
Sulfato de Qs	0.05g /15 ml agua + 10 ml de muestra	4, 5 y 6.2	Amarillo 6, rojo 40, azul básico y amarillo5	150 rpm	24	(Donato <i>et al.</i> , 2013)
Perlas de QS puro, entrecruzadas con TPP y C ₅ H ₈ O ₂ .	2% Qs (m/v) TPP 10% (m/v) GLU 0.025 M	4	Azul Directo 71	280 rpm	1	(Aguilar S.M., 2015)

Nota: Qs: Quitosano, TPP: Tripolifosfato de sodio, C₅H₈O₂: Glutaraldehído, NCT: Nanotubos de Carbono. AO10: Acid Orange 10, AO12: Acid Orange 12, AR18: Acid Red 18, AR73: Acid Red 73, AG25: Acid Green 25.

En el caso del chapulín el porcentaje de proteína supera el 50% del peso del insecto seco y hasta el momento, no existen productos comerciales de quitosano con esta fuente.

Wu *et al.* (2009) reportaron el uso de diferentes fuentes de quitosano utilizadas en un mismo modelo para la adsorción de Scarlet 2GF obteniendo variaciones en los valores de adsorción máxima entre muestras.

También es importante considerar las características del colorante que se plantea adsorber, debido a que las propiedades e interacciones de las moléculas del mismo dependerán de su afinidad tanto al polímero y a las impurezas presentes como residuos en el material quitinoso tales como minerales, proteínas y lípidos. Por ejemplo, Wong *et al.* (2004) realizaron la adsorción en un mismo sistema, pero variando el colorante a adsorber, (AO10, AO12, AR18, AR73, AG25), como resultado obtuvieron diferencias en la adsorción en cada caso.

Las concentraciones en las que es utilizado el polímero varían dependiendo de la forma en que es usado, en el caso de soluciones acuosas van desde 1/100 (p/v) hasta 1/25 (p/v), mientras que si se trata de un hidrogel depende de si el quitosano es usado puro, con algún entrecruzante o si se realizó alguna modificación estructural para favorecer la adsorción, aun así, las concentraciones oscilan entre 1% y 3.2% (p/p).

Flores *et al.* (2005) y Aguilar S. (2015) produjeron perlas de quitosano ya que esta forma confirió una mayor superficie de contacto que favorece la adsorción, además del uso de entrecruzantes como el $C_5H_8O_2$ (glutaraldehído) y el TPP (tripolifosfato de sodio).

En la adsorción de rojo congo, Chatterjee *et al.*, (2009) usaron perlas de quitosano cubiertas por bromuro de cetil trimetil amonio, considerado un tensoactivo

catiónico, para mejorar su afinidad al colorante aniónico. Se ha optado por realizar quitosanos en forma de bastón para tener un llenado más completo de la columna.

En este sentido, Gallardo *et al.*, (2014) estudiaron la remoción de un colorante básico (azul de metileno, AM) con un material compuesto por quitosano (Sigma-Aldrich) y zeolita (materiales cerámicos de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Buenos Aires), a pesar de no obtener los mejores resultados de adsorción, se tuvo la ventaja de haber realizado ensayos discontinuos, monitoreando la remoción en función del tiempo midiendo la absorbancia de la solución mediante espectrofotometría UV-Vis a 660nm, alimentando el colorante mediante una bomba peristáltica en sentido ascendente.

Para la cinética de adsorción, estudiaron la variación de la capacidad de adsorción en función del tiempo de una solución de AM (5 mg/L) con ambos materiales, obteniendo un modelo cinético de pseudo-segundo orden y ajustaron a isothermas de Langmuir para quitosano-zeolita y Freundlich para quitosano, observando que de los dos absorbentes el primero fue el que presentó mayor capacidad de adsorción.

Por otra parte, en el Instituto Tecnológico de Sonora se realizó la adsorción del colorante azul directo 71 (AD71) y aminas aromáticas en hidrogeles de quitosano proveniente de quitina de camarón, para lo cual elaboraron perlas puras y otras entrecruzadas con tripolifosfato de sodio y glutaraldehído, evaluando pH y tiempo de remoción (Aguilar, 2015). Como resultados lograron una remoción máxima del colorante AD71 con quitosano puro a pH 4 durante 8 horas de tiempo de contacto, alcanzando un 99.16 % de colorante removido a pH 3, pero debido a que en estas condiciones el quitosano se solubiliza, se consideró como mejor resultado a pH 4 una remoción cerca del 40% muy similar a la alcanzada con las perlas entrecruzadas con $C_5H_8O_2$ por tales resultados se eligió el glutaraldehido como entrecruzante y un pH 4 para evaluar el sistema propuesto.

IV. JUSTIFICACIÓN

Se estima que en México se generan hasta 60,000 ton de desechos de camarón al año, en algunos casos estos desechos son devueltos al mar, incinerados o dejados a la intemperie ocasionando contaminación en el agua, aire y suelo costero (Rivera *et al.*, 2014). El chapulín al ser considerado una plaga o un alimento de bajo consumo, puede ser aprovechado para la extracción de material quitinoso como un subproducto.

Considerando lo anterior, en esta investigación se plantea el uso de quitosanos, extraídos de la cáscara de camarón, ampliamente estudiado como adsorbente, y de la cutícula de chapulín, como una fuente novedosa, con un considerable contenido de quitina (16%), dándole un uso para el desarrollo de sistemas de adsorción en columna, como parte del tratamiento de residuos líquidos con colorantes.

Los sistemas de adsorción se realizarán a pH 4 y a 30°C, debido a que estos valores de pH, son los más comúnmente utilizados en sistemas en los que el adsorbente ha entrecruzado con glutaraldehído gracias a la estabilidad química que permite realizar ensayos a diferentes valores de pH sin solubilizar la matriz. Se optó por elaborar un criogel debido a que presentan poros de mayor tamaño que los hidrogeles y se mantendrán en forma de cilindro, para mantener el criterio geométrico de las columnas cubriendo así completamente el volumen.

V. HIPÓTESIS

Los criogeles de quitosano de chapulín entrecruzado con glutaraldehído presentarán la misma capacidad de adsorción que los criogeles de quitosano de camarón entrecruzado con glutaraldehído en un sistema por lote y lecho fijo, debido a que tendrán el mismo tratamiento de purificación y elaboración.

VI. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la capacidad de adsorción para colorantes, con soportes de criogeles de quitosanos de chapulín y de camarón entrecruzados con glutaraldehído en sistemas por lote y lecho fijo.

Objetivos específicos

- ❖ Extraer y purificar quitosanos a partir de cutícula de chapulín y de cáscara de camarón.
- ❖ Caracterizar fisicoquímicamente los quitosanos obtenidos de chapulín y de cáscara de camarón.
- ❖ Elaborar criogeles entrecruzados con glutaraldehído. a partir de los quitosanos obtenidos,
- ❖ Estudiar el efecto de diferentes condiciones de operación (pH y concentración) sobre la cinética de adsorción de los diferentes colorantes. en un sistema por lote y en lecho fijo.
- ❖ Obtener un modelo que represente el proceso de adsorción mediante el ajuste a las isothermas de Langmuir y Freundlich. en sistemas por lote.
- ❖ Elaborar un prototipo para la adsorción de colorantes en lecho fijo usando columnas empacadas con criogeles de quitosanos.

VII. METODOLOGÍA

El trabajo se realizó en los Laboratorios Químico-Biológico y de Bioprocesos de la Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec y los laboratorios del grupo de Biopolímeros de CIAD (Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C.) en Hermosillo, Sonora.

7.1. Obtención de quitina

La extracción de quitina se realizó a partir de dos fuentes: cáscara de camarón y chapulín entero y deshidratado. Los protocolos propuestos para la extracción de quitina de exoesqueleto de artrópodos constan de tres etapas esenciales, la desmineralización, desproteinización, y despigmentación, las cuales se describirán a continuación.

7.1.1. Desmineralización de quitina

El sólido seco (cáscara de camarón o chapulín entero) se añadió en una proporción de 1:15 (p/v). El proceso se realizó a temperatura ambiente en agitación continua durante 1 hora en solución acuosa de ácido clorhídrico (HCl) 1.2 M. Se realizaron lavados posteriores hasta llegar a pH 7 y se secó (Horno Felisa) a 60°C durante 24 h (Ramírez Coutiño, 2009).

7.1.2. Desproteinización de quitina

El proceso se llevó a cabo en condiciones alcalinas, el sólido se añadió en proporción de 1:50 (p/v), el solvente utilizado fue hidróxido de sodio (NaOH) 1 M manteniendo agitación constante a temperatura ambiente, durante 2 h. Con lavados posteriores hasta llegar a la neutralidad y se secó a 60°C durante 24 h (Ramírez Coutiño, 2009).

7.1.3. Despigmntación de quitina

La eliminación del color fue realizada usando hipoclorito de sodio al 6% CLORALEX® en proporción 1/10 (p/v) en agitación constante durante 20 min para camarón y 40 min para chapulín, siendo un método efectivo para ambas fuentes. Inmediatamente, se realizaron lavados con agua destilada hasta eliminar la presencia de hipoclorito de sodio.

7.2. Obtención de quitosanos.

7.2.1. Desacetilación de quitina

La obtención de quitosanos se realizó por desacetilación termo alcalina heterogénea, tratando cada quitina con hidróxido de sodio (NaOH) al 65% (p/p) a 95°C por un periodo de 2 horas, se hicieron pruebas de solubilidad del polímero la cual se apreciaba colocando una alícuota del material en HCl al 5%.

Se retiró el exceso de álcali realizando lavados con cambios de agua destilada hasta llegar a la neutralidad y secando para su posterior purificación y caracterización.

7.2.2. Purificación de quitosanos

Se ejecutó por filtración, primero solubilizando 1% de quitosano en ácido acético (HAc) 0.6 M manteniendo en agitación continua durante 24 h hasta su completa solubilización, posteriormente con la ayuda de una bomba de vacío se efectuó una filtración, primeramente en tela organza lisa 100% poliéster, consecutivamente en papel filtro y posteriormente a través de papel filtro Whatman™ Qualitative número 41 (20-25 µm) seguido del número 1 (11 µm), finalizando con membranas de nitrocelulosa de 3 y 1.2 µm para eliminar el material no soluble.

Una vez filtrado se procedió a precipitar adicionando gota a gota una solución NaOH 1 M de manera lenta y homogeneizando continuamente la muestra evitando que el quitosano atrapara grandes cantidades de NaOH.

El precipitado se separó por centrifugación a 5500 rpm, posteriormente se realizaron lavados con agua destilada para retirar el exceso de NaOH. Se recuperó el quitosano y congeló a -20°C para una liofilización de 24 h a 0.01 mBar y -106°C (Rhazi *etal.*, 2002).

7.3. Caracterización fisicoquímica de las quitinas

La quitina únicamente se le determinó el grado de acetilación para comprobar que efectivamente se estaba logrando una desacetilación en el proceso, esta determinación se llevó a cabo mediante espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier e interferómetro (FTIR) (DYNASCAN SPECTRUM 100, Perkin Elmer).

7.4. Caracterización fisicoquímica de los quitosanos

La caracterización de estos materiales fue importante para determinar las diferencias entre los polímeros de diferentes fuentes, para lo cual se realizaron las siguientes determinaciones.

7.4.1. Determinación del porcentaje de humedad

Se determinó por gravimetría el porcentaje de humedad presente en la muestra, tomando una alícuota de 0.1 g del polímero, tomando el peso inicial y llevandolo a peso constante en un horno a 60°C con lo que se registró una pérdida de peso correspondiente a el agua retirada de la muestra.

7.4.2. Determinación de proteínas

Se realizó mediante el método de Kjeldahl el cual se basa en la determinación de nitrógeno total, mediante eliminación de material orgánico con ácido sulfúrico concentrado, para formar excesos de sulfato de amonio que pueden ser cuantificados mediante una valoración. Se determinó basándose en la norma NMX-F-068-S-1978 con modificaciones:

Digestión

A un gramo de muestra se le añadieron 2.5 g de tabletas Kjeldahl (Missouri catalyst, Merck KGaA) molidas. La mezcla se llevó a ebullición homogénea con 25 mL de ácido sulfúrico. Seguidamente se adicionaron 400 mL de agua y 50 mL de NaOH 1:1 (p/v), para que en la destilación se generara un arrastre de NH₃ y vapor de agua. Se acopló a la salida del destilador un matraz que contenía 50 mL de ácido bórico y unas gotas del indicador (reactivo de Shiro Tashito), hasta obtener aproximadamente 300 mL. Finalmente, el destilado se tituló con HCl 0.1N. El porcentaje de nitrógeno fue calculado mediante la **Ecuación 3**.

$$\% \text{nitrógeno} = \frac{\text{Vol de HCl empleado} \times N \text{ del ácido} \times 0,014 \text{ meq de N} \times 100}{\text{Masa de la muestra en g.}} \dots (3)$$

La cantidad de proteína (en porcentaje) se determinó multiplicando el porcentaje de nitrógeno por un factor, que en este caso es de 6.25.

7.4.3. Determinación de extracto etéreo

Se denomina extracto etéreo al conjunto de cuerpos grasos que contiene un alimento (ésteres de los ácidos grasos, fosfolípidos, lecitinas, esteroides, ceras, ácidos grasos libres) y son solubles en disolventes no polares, El método de Soxhlet realiza una extracción cíclica de compuestos solubles en éter (norma NMX-f-089-s-1978). Se usó 1 g de muestra en un dedal de papel filtro, cubierto por

algodón, posteriormente se colocó el cartucho dentro del extractor Soxhlet y se añadieron 80ml de éter, se calentó por 4 horas, una vez pasado este tiempo se evaporó el éter restante, se llevó a peso constante y se determinó el % de extracto etéreo mediante la **Ecuación 4**.

$$\% \text{ extracto etereo} = \frac{\text{Masa en g del matraz con grasa} - \text{Masa en g del matraz}}{\text{Masa en g de la muestra}} \times 100 \dots (4)$$

7.4.4. Determinación de grado de desacetilación (DA)

7.4.4.1. Determinación por espectroscopía FTIR

El espectro IR permite determinar el %DA, con base en la relación que presentan las bandas características a 1320 cm^{-1} asociada a *N*-acetil glucosamina y 1420 cm^{-1} pico adecuado para la comparación de dos monómeros que de acuerdo a datos experimentales nos permite conocer el %DA ajustando al modelo matemático de la **Ecuación 5**.

Para la obtención del espectro, se elaboraron pastillas de KBr (bromuro de potasio) con la muestra molida, haciendo uso de la prensa ICL EZ Pulse™ hidráulico, las pastillas secas se analizaron en un espectro IR mediante un espectrómetro de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), NICOLET, Protégé. Para la determinación del %DA se usó la **Ecuación 4** (Brugnerotto, Lizardi, Goycoolea, Argüelles-Monal, Desbrieres, et al., 2001).

$$\%DA = 31.92 \left(\frac{A_{1320}}{A_{1420}} \right) - 12.20 \dots (5)$$

7.4.4.2. Determinación por valoración

esta determinación únicamente es para quitosano por la capacidad de ser soluble a diferencia de la quitina. Para ésta determinación se prepararon soluciones de concentración conocida. Una cantidad conocida de quitosano (± 40 mg) se disolvió en un exceso conocido de HCl, (± 30 mL de HCl 0.01 M), una vez disuelto, se procedió a valorar con NaOH 0.1 N (Roberts, 1992).

Domard y Rinaudo (1982) propusieron una técnica mejorada en la cual el quitosano disuelto en ácido es titulado progresivamente con NaOH valorado mientras se monitorea con un conductímetro para posteriormente determinar la estequiometría de la reacción, obteniendo una curva con dos puntos de inflexión que señalan el volumen de gasto a emplear en la **Ecuación 6** para sustituir en la **Ecuación 7**.

$$\text{peso equivalente} = \frac{\text{peso de la muestra}}{(0.1N)(\text{Volumen de gasto})} \dots (6)$$

$$DD = \frac{203}{42.04 + \text{peso equivalente}} \dots (7)$$

Donde 203 es la constante que representa el peso molecular de la fracción de 2-acetilamina-2-desoxi- β -D-(+)-glucopiranososa y 42.04 es la diferencia entre los pesos moleculares de ambas fracciones (Muzzarelli, 1977).

En la **Figura 12** se muestra el comportamiento característico de la determinación de %GDA mediante valoración conductimétrica del quitosano; en ella se observa el comportamiento de una solución de quitosano disuelta en un exceso de ácido conocido en función de del volumen adicionado de una solución alcalina de normalidad conocida para determinar grupos amino libres a partir del

comportamiento de la curva, siendo este un método gráfico, analizando los resultados mediante el programa Origin® para determinar la intersección de las pendientes correspondientes al ácido, polímero (grupos acetilo del quitosano) y la base para sustituir posteriormente ese valor en la ecuación de Domard y Rinaudo (1982).

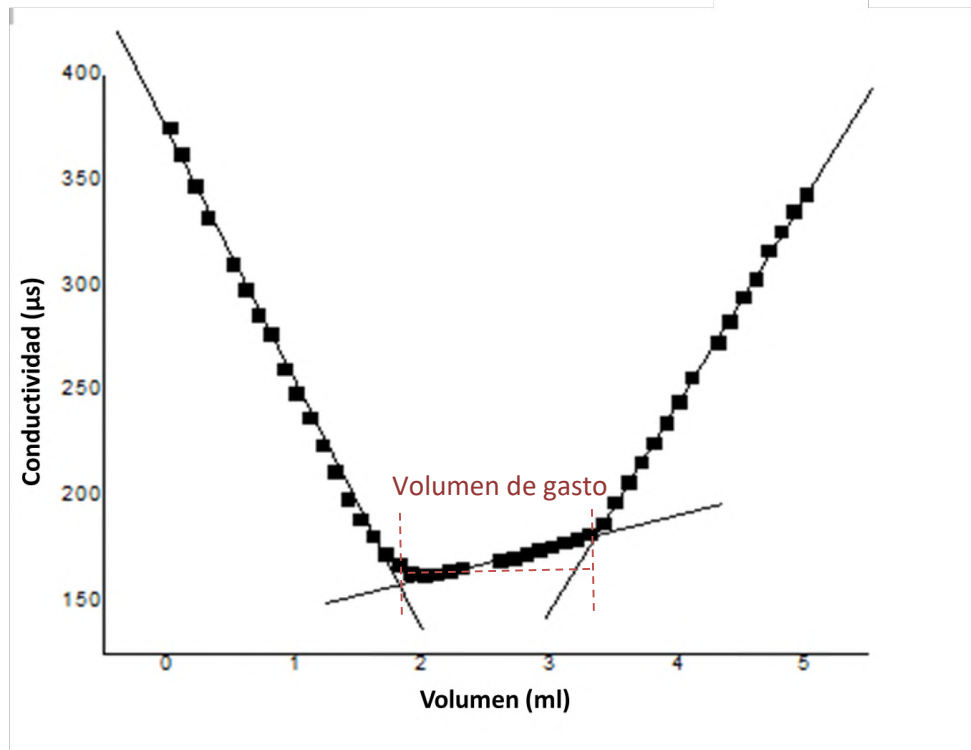


Figura 9 Curva de valoración conductimétrica.

7.5. Elaboración de criogel de quitosanos

Se preparó una solución de quitosano al 1.5% en HAc 0.6 M se mantuvo en agitación por 24 h para que se disuelva. la preparación fue colocada en un baño de hielo donde se le añadió glutaraldehído al 50%, como entrecruzante, con respecto al grado de acetilación determinado con la **Ecuación 8**.

$$R = \frac{[-CH = O]}{[-NH_2]} \dots (8)$$

Se sometió a agitación con vórtex e inmediatamente se extrajo la solución para ser inyectada en una columna de vidrio, llevándola a congelación -15°C durante 24 horas, después de las cuales la columna fue lavada con agua desionizada para remover el material que no entrecruzado (Tapia *et al.*, 2004).

Los criogeles fueron elaborados con una relación 1:1.5 (v/v) en relación de los grupos amino con la cantidad de glutaraldehído. Se decidió por esta concentración para asegurarse de ocupar la mayoría de los grupos amino libres del polímero.

7.6. Caracterización de criogeles

Una vez obtenido el criogel se procedió a realizar una caracterización físico-química, primeramente, comprobando si hubo entrecruzamiento mediante espectrómetro FTIR para apreciar el cambio en los grupos funcionales, y posteriormente se realizaron pruebas de hinchamiento y microscopia para observar la superficie del hidrogel.

7.6.1. Espectroscopia FTIR

Se usó un FTIR (DYNASCAN SPECTRUM 100, Perkin Elmer), en el cual únicamente se depositó una muestra seca en polvo a una presión que el equipo marcando como 100%, con un gasto de energía máximo señalado en el equipo en 346 V, y se usaron 16 barridos a una temperatura de 20°C en humedad del 20%.

7.6.2. Hinchamiento

Las pruebas de hinchamiento se realizaron a través de gravimetría, por triplicado, consistieron en el seguimiento de la ganancia en peso debida a la absorción de

agua de los criogeles con respecto al tiempo, para lo cual se realizó una inmersión del hidrogel previamente liofilizado y pesado en agua destilada manteniendo la temperatura constante de 25°C con ayuda de un baño maría (Poly ProBath, REVSCI), para medir la ganancia de peso con respecto al tiempo, dejándolo en contacto con el agua y sacarlo por intervalos de tiempo para ser pesado en una balanza analítica (OHAUS) hasta llegar a una condición de estabilidad para conseguir un perfil de hinchamiento **Ecuación 9** (Tapia *et al.*, 2004 modificado).

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso final} - \text{Peso inicial}}{\text{Peso inicial}} \times 100 \dots (9)$$

7.6.3. Microscopía

Se realizaron cortes finos de los criogeles para ser observados en un microscopio invertido (Nikon eclipse Ts 100), se ocupó el objetivo de 40 X para determinar el tamaño de los poros de la matriz con apoyo del software QCapture y analizando las dimensiones del poro con el software ImageJ bundled Java 1.8.0_112.

7.7. Preparación de soluciones patrón de colorantes

Se analizó el uso de 2 colorantes, para los cuales se realizó una curva de calibración en el medio donde presentan mejor solubilidad.

En cada caso, se pesaron 0.002 g del colorante y se aforó con solvente para alcanzar una concentración de 20 ppm (partes por millón) que es el límite para obtener linealidad en la curva estándar. Para este estudio fueron considerados:

Azul brillante de Coomassie (ABC), (SIGMA-ALDRICH®) en medio alcohólico a pH 2 y pH 4.

Ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), (SIGMA-ALDRICH®), con 98% de pureza en medio acuoso, a pH 2.0 y pH 4.0.

Una vez preparadas las soluciones de colorantes se mantuvieron en frascos ámbar con rosca y a temperatura constante entre 15 y 25°C.

7.7.1. Curvas de calibración

Para cada caso se realizó una curva de calibración midiendo la absorbancia en el lector de microplacas con un filtro a 590 nm, para monitorear la capacidad de adsorción.

Lo anterior se realizó a partir de una solución patrón con una concentración de 20 ppm y se realizaron diluciones de los colorantes a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, y 20 ppm de los colorantes DNS en agua y ABC en etanol (**Anexo 1**).

7.8. Cinéticas de adsorción

Se realizaron cinéticas por lote para estudiar el comportamiento del material y conocer las constantes necesarias para elaborar las isothermas correspondientes. Posteriormente se evaluó la adsorción en el prototipo de adsorción columna.

A pesar de que inicialmente se planteó el uso de cristal violeta, las pruebas preliminares mostraron que debido a la naturaleza catiónica del quitosano presentaba cierta repulsión iónica con el CV, ya que también posee cargas positivas en su estructura. Por ello que se optó por utilizar colorantes aniónicos como el ABC y el DNS.

7.8.1. Cinéticas en sistema por lote

Las cinéticas se realizaron en un agitador tipo shaker a 25°C) y agitación de 100 rpm por 100 h. Se pusieron en contacto 0.006 g del hidrogel R=1.5 de entrecruzante, con 35 mL de solución de los colorantes a diferentes

concentraciones, mismas que se muestran en el **Anexo 2**. Evaluando las partes por millón (ppm) del colorante presentes en la solución con respecto al tiempo.

7.8.2. Determinación de modelos cinéticos

Una vez realizadas las cinéticas se procedió a analizar el comportamiento de la adsorción, ajustando los datos a los con los modelos matemáticos de Langmuir y Freundlich para describir el fenómeno.

7.8.3. Cinéticas en lecho fijo

Se realizó en columnas que fueron tubos huecos de goteros, con capacidad de 2.5 ml, dentro de cada una se encontró la matriz polimérica, es decir, el criogel de Qs al 1.5% entrecruzado con $C_5H_8O_2$ al 50% en proporción $R=1.5$ ($-CH=O/ -NH_2$), la columna cubrió un volumen del 80% del total del tubo (2mL de solución). Anexado al mismo un conector para manguera. Para la alimentación se utilizó una manguera de caucho de Bio-Rad Laboratories® de 0.4mm de diámetro.

Los datos de la cinética en lecho fijo se obtuvieron haciendo pasar una solución del colorante a través de las columnas anteriormente mencionadas. La solución pasó a través de la columna con ayuda de una bomba rotatoria de desplazamiento positivo de tubo flexible (peristáltica) (REVERSE INTERMITENT) de tipo low-Flow con capacidad de 0.03-8.20 mL/min como se muestra en la **Figura 9**.

Se estabilizó primeramente la columna para verificar el flujo de alimentación, para lo cual se hizo pasar de 4 a 5 volúmenes de agua/alcohol en la columna dependiendo del colorante a adsorber.

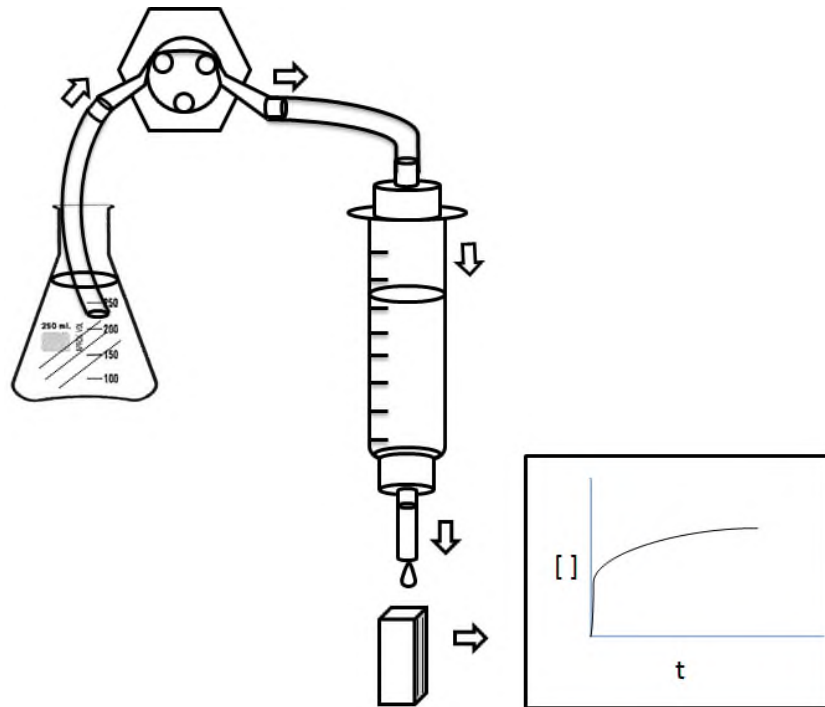


Figura 10. Diagrama de la colocación de las columnas de adsorción, mientras que el recuadro se observa el gráfico que corresponde a un fenómeno de adsorción Tipo I, (Tipo Langmuir)

Se estableció un sistema a pH 4.0 a 27°C y pH 2.0 a 27° manteniendo un caudal fijo de 0.5 ml/min, se monitoreó la concentración de colorante a la salida de la columna y evaluando el comportamiento de la adsorción mediante espectrofotometría UV, la toma de datos se realizó cada 5 min durante tres horas.

7.9. Análisis estadístico

Para realizar el análisis estadístico de la adsorción por lote, se procedió a seguir un diseño factorial completamente al azar, donde se evaluó la capacidad de adsorción del quitosano considerando cuatro factores diferentes: la fuente de la que proviene el material, la concentración de colorante presente en la solución, el colorante adsorbido y el pH de la solución.

Por su parte el análisis estadístico de la adsorción en columna, se procedió a seguir un diseño factorial completamente al azar, donde se evaluó la capacidad de adsorción del quitosano considerando tres factores diferentes: la fuente de la que proviene el material, el colorante adsorbido y el pH de la solución.

Esto para poder comparar las variables del sistema realizando Análisis de Varianza (ANOVA) y una comparación múltiple de medias (Tukey) ambas con una significancia de 0.05. Los datos se analizaron empleando el software estadístico Minitab® 16 (Minitab Inc.).

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Extracción y purificación de quitina

La cáscara de camarón y chapulín recolectado fueron secado a temperatura ambiente antes de comenzar la producción de quitosano. Se partió de un total de materia seca de 3 kg de chapulín y 8 kg de cascara de camarón.

Los rendimientos de cada proceso de purificación (desmineralización y desproteínización) de la quitina de camarón y chapulín se muestran en la **Tabla 5** las cuales no mostraron diferencias significativas (**Anexo 3**).

Tabla 5. Rendimiento en la purificación de quitina

Tratamiento	Rendimientos	
	Camarón	Chapulín
Desmineralización	60.64 ± 3.89 ^{ao} %	59.89 ± 1.94 ^{ao} %
Desproteínización	47.18 ± 2.81 ^{ao} %	43.75 ± 1.44 ^{ao} %
Rendimientos finales	14.00±0.40%	13.00± 0.20%

Los rendimientos finales de la extracción a partir del peso seco de la materia prima fueron, 14.00±0.40% y 13.00±0.20% para camarón y chapulín, respectivamente. Estos rendimientos fueron superiores a los obtenidos al extraer quitina de otras especies de chapulín, tal como los reportados por Kaya *et al.* (2015) quienes reportaron rendimientos de quitina entre el 5.3% y el 8.9% en base seca.

Por otro lado, se ha obtenido quitina a partir de otras especies como *Brachystola magna* o saltamontes pez occidental (10.4%) reportado por Moner-Miranda *et al.* (2016), *Holotrichia parallela* o gusano blanco (15%) por Liu *et al.* (2012), *Pterophylla beltrani* o insecto hoja (11.8%) por Torres-Castillo *et al.* (2015). Zhang *et al.* (2000) extrajeron quitina de las larvas de *Bombyx mori* (gusano de seda) obteniendo rendimientos aproximados del 20%.

En el paso de la despigmentación, la metodología convencional para el camarón es usar cloroformo, pero tras varias pruebas con chapulín este solvente no tuvo efecto positivo en la remoción del color, por lo que se optó por usar diferentes solventes a diferentes concentraciones siendo el hipoclorito de sodio (NaClO) al 5% (Cloralex®) el más efectivo para aclarar la apariencia del polímero.

Se evaluó el tiempo de exposición al NaClO de la quitina obtenida, logrando los mejores resultados a tiempos de 20 minutos para el camarón y 40 para el chapulín, el resultado se muestra en la Figura 10, donde se puede notar que en ambos casos se obtuvo un material blanco-amarillento.

En la **Figura 10** se muestran las materias primas para la obtención de quitina (**Fig 10 a** camarón y **b** chapulín) antes de comenzar el tren de tratamiento, así como las imágenes durante el proceso químico (**Fig 10 c** y **d**), en la parte inferior se exhiben los productos finales de la purificación en ella se aprecia que en ambos casos se obtiene un material blanco amarillento en forma de polvo (**Fig 10 e** y **f**) para cada tratamiento, se logra apreciar que la diferencia entre las fuentes es el color.

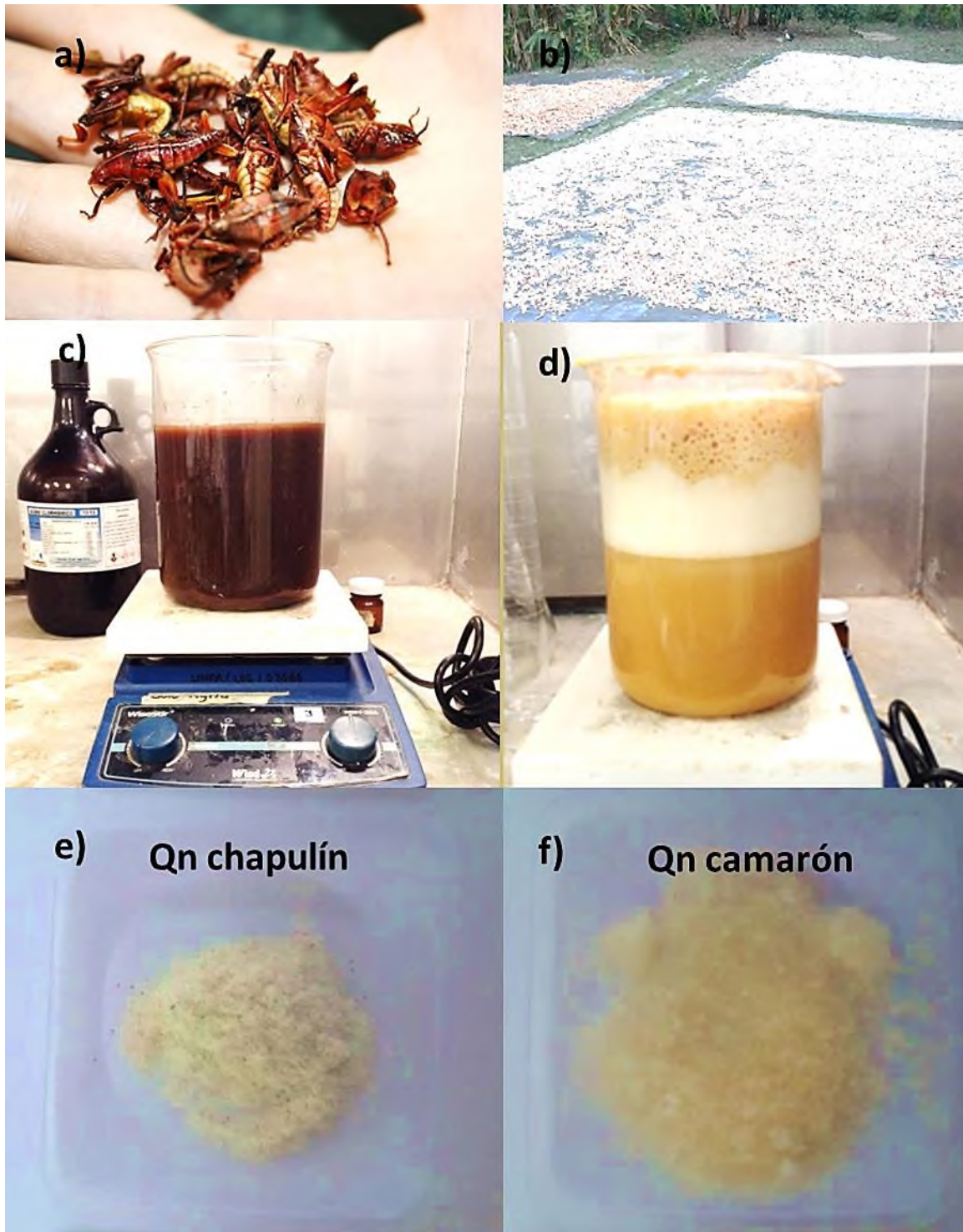


Figura 11. Proceso de purificación de quitina. a) Chapulín comercial de Ocotlán; b) Cáscaras de camarón secando al sol; c) Tratamiento químico para el chapulín; d) Tratamiento químico para el camarón; e) Quitina de chapulín purificada; f) Quitina de camarón purificada.

8.1.1. FTIR de quitina

La **Figura 11** muestra los espectros de FTIR de la quitina comercial Sigma® (**Fig 11 a**), quitina extraída de camarón (**Fig 11 b**) y quitina proveniente de chapulín (**Fig 11c**). El espectro de cada una de las quitinas obtenidas presenta los picos característicos comparados con la quitina comercial. Como los son las bandas entre 1022 y 1149 cm^{-1} correspondientes a los grupos $-\text{CH}$ y los puentes formados por el O presentes en polisacáridos, el grupo carboxilo en 1409 y 1320 cm^{-1} , asimismo la banda cerca de 1650 cm^{-1} correspondiente a una amida secundaria característica de la conformación cristalina para α -quitina (Monter-Miranda *et al.*, 2016).

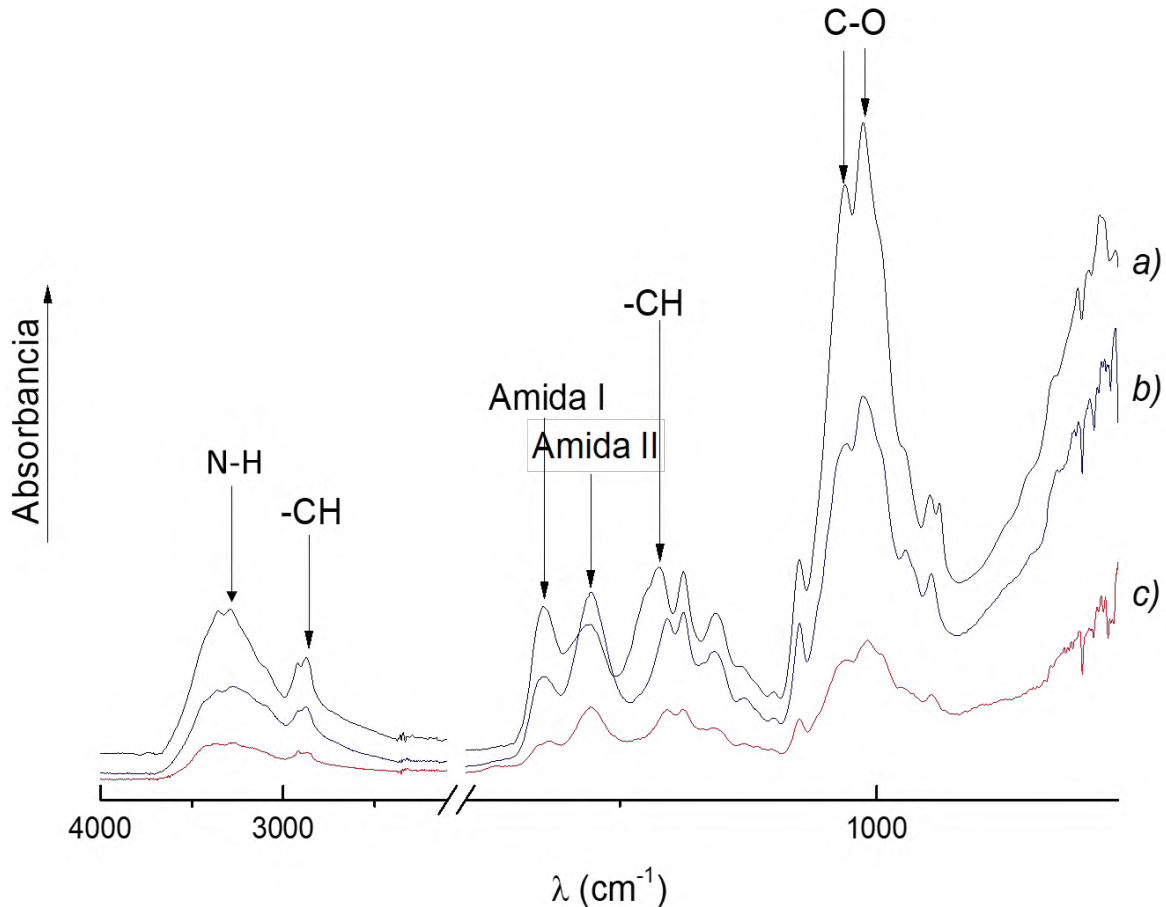


Figura 12. Espectro FTIR de quitinas obtenidas en comparación con quitina comercial; a) Qn comercial Sigma®; b) Qn camarón; c) Qn chapulín.

En la zona de 3299 cm^{-1} se visualiza la banda que indica presencia del grupo funcional, en este caso un enlace NH de acuerdo a lo reportado por Teli y Sheikh (2012). Se observó que los espectros de los tres materiales presentan las mismas bandas, sin embargo, la intensidad difiere entre ellos, esto se le puede atribuir a la cantidad de muestra que fue colocada para hacer la lectura.

8.2. Quitosano

Se obtuvieron muestras de quitosano de camarón y chapulín, ambas fueron solubles en soluciones ácidas diluidas, lo cual es un indicativo que se lograron desacetilar de manera efectiva las muestras de quitina.

8.2.1. Caracterización físico química de los quitosanos

El porcentaje del grado de desacetilación (DA) puede ser determinado mediante el análisis de las muestras purificadas, ya sea por el análisis del espectro IR del material o por valoración conductimétrica.

A los quitosanos obtenidos mediante desacetilación termo alcalina heterogénea y purificados con membranas de nitrocelulosa se les realizó la determinación de porcentaje de desacetilación, proteína, humedad y lípidos para conocer si había alguna diferencia del contenido entre ellos. Estas determinaciones fueron realizadas con un lote de quitosano inicial de chapulín y quitina Sigma para evaluar la similitud de los métodos. Los valores obtenidos se muestran en la **Tabla 6** pudiendo apreciar que son muy similares por lo que se decidió determinar los %DD de lotes posteriores de quitosanos utilizando únicamente por FTIR ya que es un método considerablemente más rápido.

En la **Tabla 6** se muestran los porcentajes del grado de desacetilación alcanzados en el quitosano utilizado para las cinéticas de adsorción. Con ambos métodos, los resultados del % DA fueron similares.

Tabla 6. Comparación del método de FTIR vs Valoración para determinar %DD.

Muestra	%DA por IR	%DA por valoración conductimétrica
Quitosano Sigma	69.18	69.03
Quitosano chapulín	70.46	70.57

Por otro lado, se observa una diferencia pequeña entre los porcentajes de desacetilación dependiendo de la fuente. Esto puede atribuirse al tratamiento previo de despigmentación en donde la quitina de chapulín recibió un tratamiento más agresivo para lograr la coloración deseada, y por tanto las cadenas poliméricas de N-acetil glucosamina quedaron más susceptibles a tratamientos posteriores.

Se muestran en la **Tabla 7** las características de los quitosanos obtenidos, la cual nos permiten apreciar que el quitosano de chapulín purificado posee ligeramente más proteína total que el de camarón, caso contrario el contenido de lípidos donde se muestra que el camarón es ligeramente superior. En cuanto al porcentaje de humedad, ambas muestras presentan la misma, esto atribuido a que se partió de muestras lo más secas posibles.

Tabla 7. Características de los quitosanos obtenidos

	Fuente	
	Camarón	Chapulín
Rendimiento de desacetilación	50.86± 2.02%	37.02±3.62%
%DD	80.27±0.28%	80.26 ±0.32%
Proteína	1.11±0.42%	2.05±1.05%
Humedad	0.19±0.01%	0.19±0.01%
Lípidos	2.51±0.20%	2.01±0.54%

Rodríguez *et al.* (2010) caracterizaron quitosano de Sigma Aldrich® por FTIR y conductimetría obteniendo resultados de 80.5% DD por FTIR y 83.95% DD por conductimetría reportando un promedio de 82% DD, valores muy semejantes a los obtenidos en el presente trabajo determinados por FTIR (**Tabla 7**).

Es de hacer notar que el proceso de desacetilación elegido en el presente trabajo produce quitosanos con grado de acetilación semejante a los reportados en la literatura, lo que nos hace suponer que las condiciones elegidas afectan a los grupos acetilos en la quitina en la misma proporción, no importando la fuente de la cual provenga.

De la Paz *et al.* (2012) reportaron una optimización en el proceso de obtención de quitosanos a partir de langosta, mediante el método de desacetilación termo alcalina heterogénea, utilizando NaOH 45% (p/p) durante 30 minutos a 100°C, obteniendo un porcentaje de DD del 76%, valores por debajo a los de este estudio esto debido a que los tiempos que usaron fueron menores, además de que trabajaron con una fuente distinta de material quitinoso.

Por otro lado, Escobar *et al.* (2013) realizaron la optimización del proceso de desacetilación de caparazones de crustáceos, comparando diferentes porcentajes de NaOH (40, 50, y 60% (p/p)) a 100°C. Entre los quitosanos que obtuvieron, el que presentó las mejores propiedades fue el procesado en solución de NaOH al 60%, con un %DD de 80.67%, estos datos son semejantes a los obtenidos en el presente trabajo.

Torres-Castillo *et al.* (2015) en la búsqueda de nuevas especies que representaran una fuente factible para la extracción de quitosano reportaron un 58.8% de rendimiento de este material posterior a la desacetilación termo-alcalina heterogénea (NaOH 70%, 120°C, 1.5 h) de quitina de *Pterophylla beltrani*.

Amador-Mendoza *et al.*, (2016) reportaron metodologías alternativas para la obtención de quitina utilizando métodos físicos (sonicación) y biológicos (enzimáticos y fermentativos) para disminuir el uso de solventes, obteniendo porcentajes de desproteización del 98.91% para chapulín y 92.66 % para camarón, mientras que, en el presente trabajo, el porcentaje obtenido fue del

96.26% para chapulín y 93.66% para camarón por método químico al final del tratamiento, porcentajes obtenidos a partir del contenido de proteína inicial del material quitinoso (54.84% y 15.6% para chapulín y camarón, respectivamente).

El porcentaje de proteína en el quitosano para ambas fuentes (**Tabla 7**), fue similar al reportado por Hernández-Cocoletzi *et al.*, (2009), de 1.63%, quienes realizaron una desproteínización con NaOH 1% (p/v) y una desacetilación termo alcalina heterogénea con NaOH al 50%.

En la **Figura 13** se muestran los espectros obtenidos de los quitosanos purificados, que fueron usados para determinar el grado de desacetilación según a metodología propuesta por Brugnerotto *et al.*, (2001). Se puede apreciar la presencia de un grupo amida II (1557 cm^{-1}), la presencia de un enlace C-H, O-H y N-H (2845 , 3448 y 3362 cm^{-1} , respectivamente), además en comparación con los espectros de la quitina podemos apreciar la pérdida del grupo acetilo (1649 cm^{-1}) producto del proceso de desacetilación atribuyendo el incremento en la intensidad de las bandas para el espectro c a la cantidad de muestra colocada para la lectura.

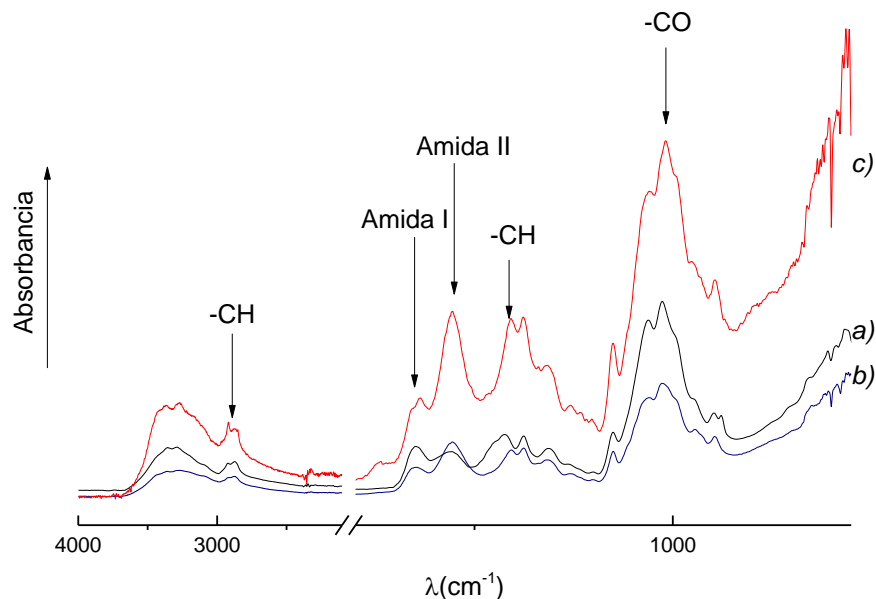


Figura 13 Espectro FTIR de quitosanos a) Quitosano a partir de quitina Sigma b) Quitosano a partir de chapulín c) Quitosano a partir de camarón

8.3. Criogeles de Quitosanos

Se obtuvieron criogeles de estructura homogénea, flexibles y fácilmente manipulables, debido al entrecruzamiento químico se obtuvieron materiales insolubles en todo el espectro de pH.

8.3.1. Espectroscopia FTIR de criogeles

El entrecruzamiento se verificó mediante FTIR logrando apreciar la disminución de la banda en 1655 cm^{-1} correspondientes a los enlaces imina $\text{N}=\text{C}$ y la presencia de un grupo amino alifático visto en 1100 cm^{-1} como lo reportado por Beppu *et al.* (2007).

En las **Figuras 14 y 15** se muestran los espectros de los criogeles creados en comparación con el espectro del quitosano sin entrecruzar, de sus respectivas fuentes, y podemos observar la modificación en la intensidad de las bandas a 1100 cm^{-1} y el aumento en la intensidad a 1655 cm^{-1} en ambos casos lo que indica la formación de enlaces entre el quitosano y el glutaraldehído ($\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$).

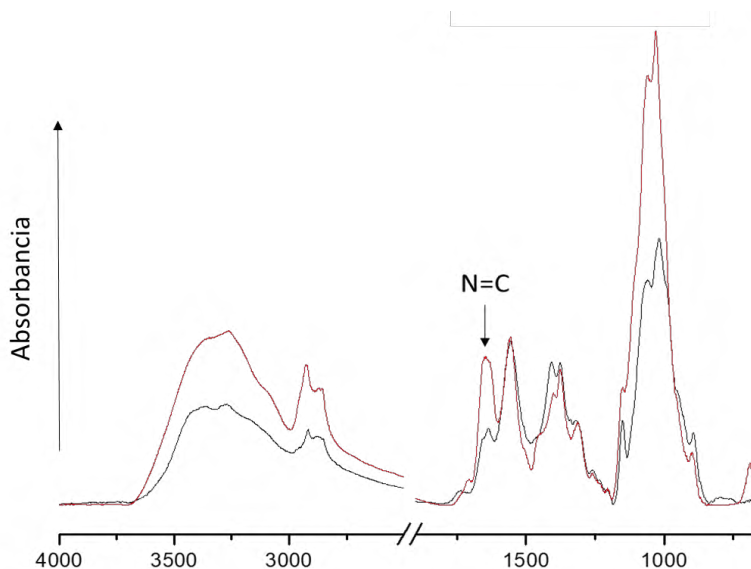


Figura 14. Comparación quitosano chapulín vs criogel chapulín $\text{qs-C}_5\text{H}_8\text{O}_2$ a) espectro FTIR quitosano de chapulín; b) Espectro FTIR criogel chapulín $\text{qs-C}_5\text{H}_8\text{O}_2$.

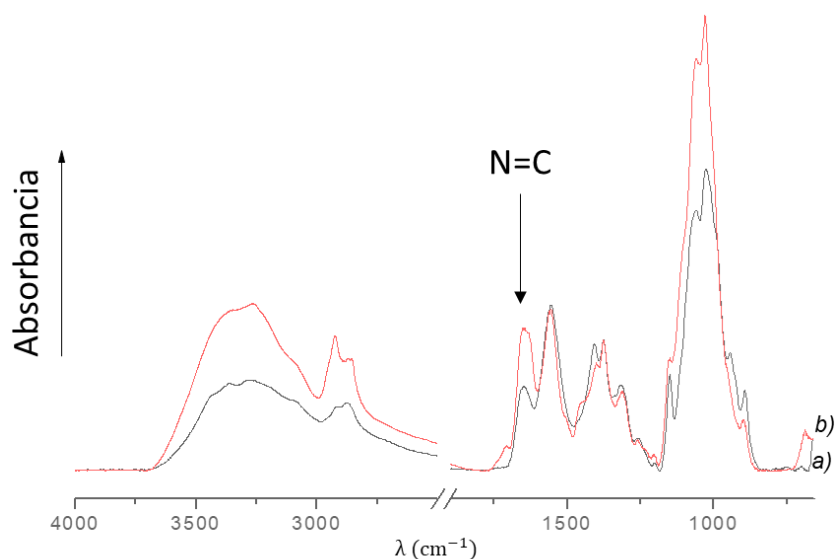


Figura 15. Comparación quitosano camarón vs criogel camarón qs-C₅H₈O₂ a) espectro FTIR quitosano de camarón; b) Espectro FTIR criogel camarón qs-C₅H₈O₂.

8.3.2. Hinchamiento

El perfil de hinchamiento fue realizado por gravimetría en los geles de R= 1.5 (Relación 1:1.5 de grupos -CH=O/-NH₂), se realizó a 25°C manteniendo la temperatura constante con ayuda de un baño María el comportamiento que se muestran en la **Figura 16**.

Se determinó que el comportamiento al hinchamiento de los criogeles, no muestra diferencia significativa entre ellos, no importando la fuente del biopolímero, ni interaccionando con el número de réplica o con el tiempo (**Anexo. 4**).

El comportamiento en el hinchamiento de los criogeles (Qs camarón y chapulín), refleja una característica importante de los criogeles, la cual consiste en la facilidad de ingresar rápidamente agua a la matriz, alcanzando así la estabilidad en menor tiempo. Este comportamiento es consistente con materiales obtenidos por este mismo método de gelificación (Tapia *et al.*, 2004).

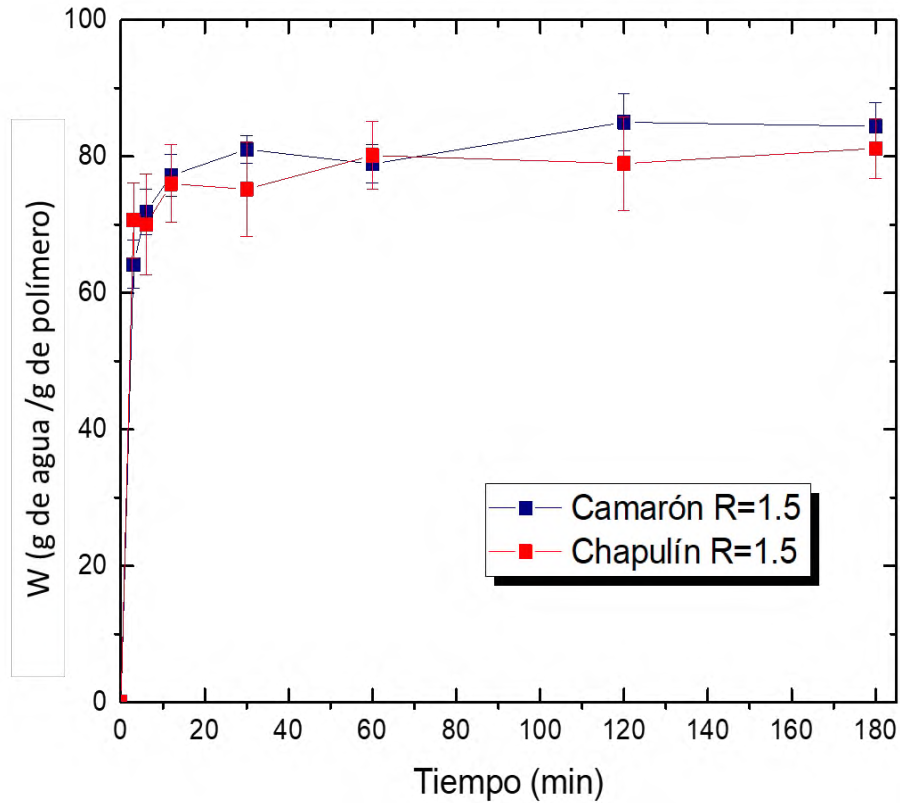


Figura 16. Perfil de hinchamiento de los criogel de quitosanos

Existen materiales que son capaces de absorber más de 50 veces su peso en agua, los criogel elaborados los realiza durante los primeros 3 minutos de prueba alcanzan el equilibrio muy rápidamente, manifestando un comportamiento tipo esponja.

La comparación múltiple de medias Tukey no muestra diferencia significativa a partir del minuto 12 en la capacidad de hinchamiento de los criogel. Lo que nos confiere una idea del tiempo que necesita el hidrogel para estabilizarse en un sistema.

8.4. Cinéticas de adsorción por lote

Las cinéticas de adsorción en sistema por lote para DNS se muestran en la **Figura 17** donde se observa el comportamiento de la adsorción con respecto al tiempo usando concentraciones iniciales de 5, 10, 15 y 20 ppm (mg/L).

Se aprecia gráficamente como la concentración inicial del colorante en cada lote afecta la capacidad de adsorción en la cinética, viéndose favorecida a una concentración inicial de 20ppm y es menor conforme disminuye éste valor.

Podemos observar que cuando la solución del colorante de DNS era de pH 2.0 (**Figura 17 i e ii**), con los criogeles de las 2 fuentes, la adsorción se vio favorecida alcanzados valores máximos a las 25 h para chapulín y 30 h para camarón, siendo 8.4 y 9.5 ppm (mg/g) para chapulín y camarón, respectivamente.

Por otro lado, a pH 4.0 (**Figura 17 iii e iv**) se observó que a medida que aumentaba la concentración del colorante se favoreció la adsorción con los criogeles de chapulín y de camarón, alcanzando valores superiores a 10 ppm en éste sistema comparado con lotes a pH 2.0 que no rebasan éste valor. Los valores máximos de adsorción fueron de 34.9 y 15.4 ppm para los hidrogeles de chapulín y camarón respectivamente, dejando ver en este caso que el quitosano de chapulín se muestra con una capacidad mayor de adsorción, alcanzando los puntos más altos de la cinética alrededor de las 20 h siendo más rápidas que las realizadas a pH 2.0.

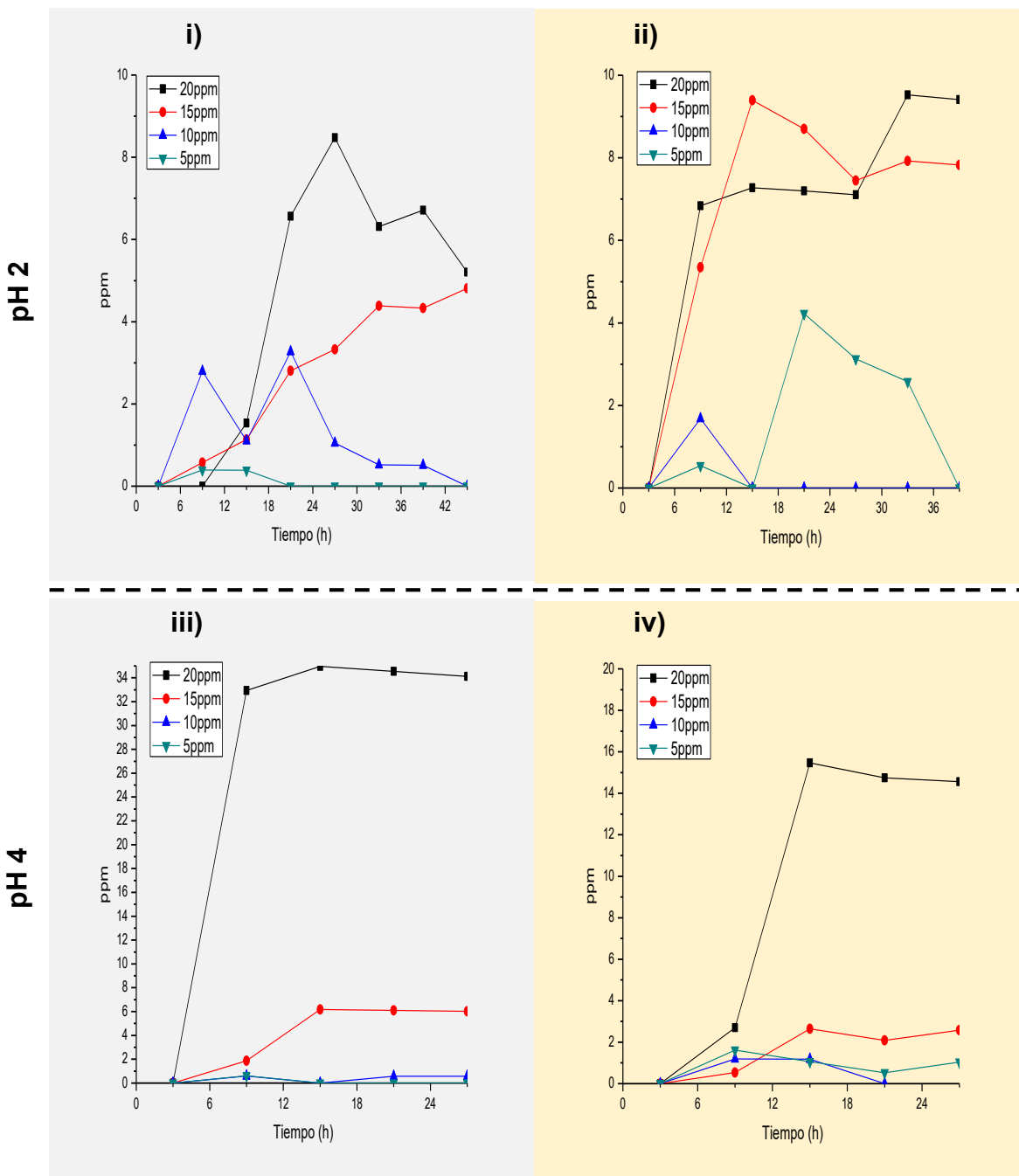


Figura 17. Cinéticas de adsorción de DNS en sistemas en lote : i) Chapulín pH 2.0; ii) Camarón pH 2.0; iii) Chapulín pH 4.0; iv) Camarón pH 4.0.

En la **Figura 18** se esquematizan las cinéticas realizadas con ABC en soluciones etanólicas con concentraciones iniciales de 5, 10, 15 y 20 ppm.

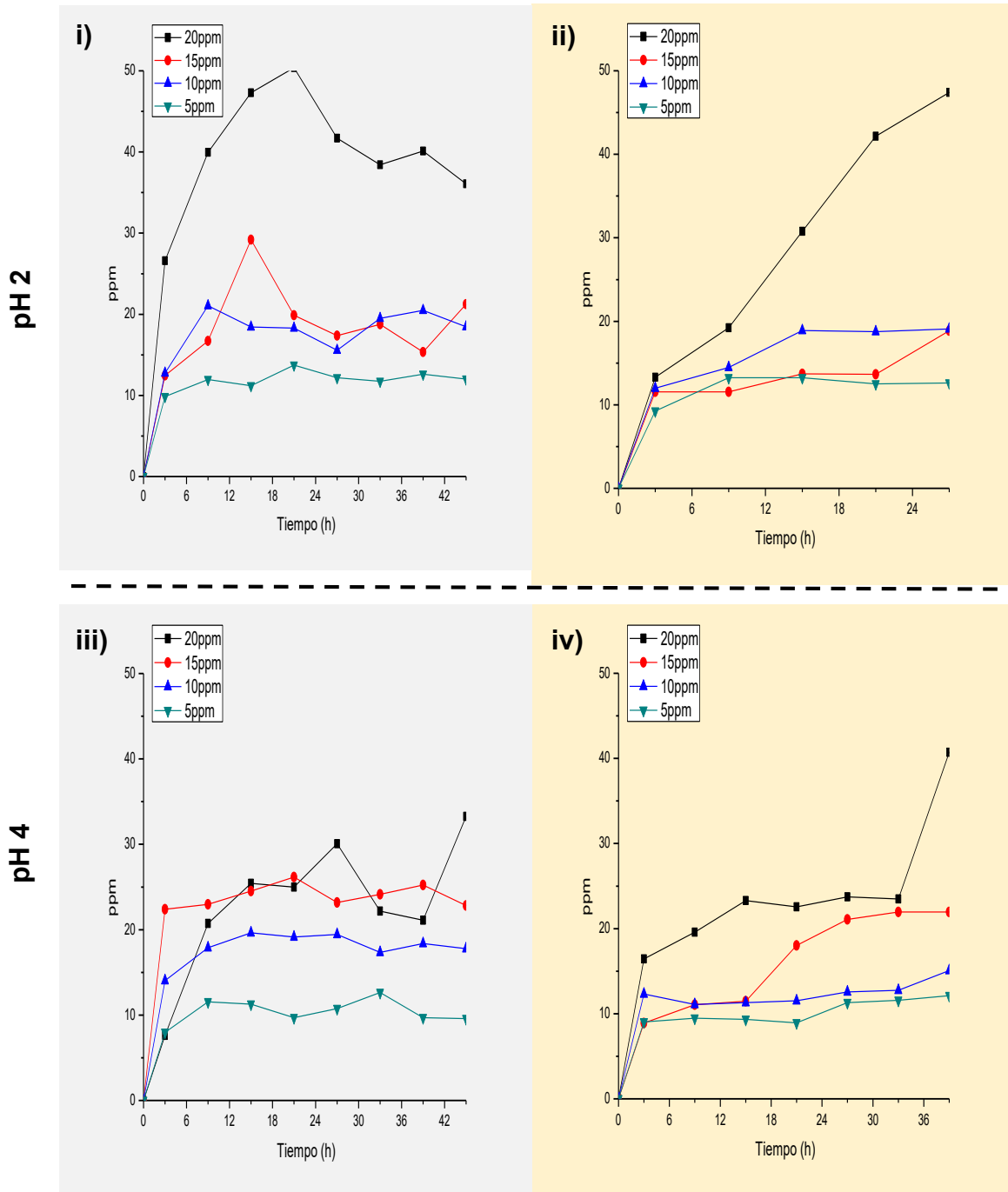


Figura 18 Cinéticas de adsorción de ABC en sistemas en lote: i) Chapulín pH 2.0; ii) Camarón pH 2.0; iii) Chapulín pH 4.0; iv) Camarón pH 4.0.

Las cinéticas de adsorción por lote de ABC mostraron que la capacidad de adsorción también es dependiente de la concentración inicial de la solución

(Figura 18). Las cinéticas a pH 2.0 (Figura 18 i e ii) presentaron una adsorción con valores máximos de 50.3 y 47.4 ppm, para chapulín y camarón, respectivamente. Mientras que en las cinéticas a pH 4.0 (Figura 18 iii e iv) los valores máximos observados de adsorción fueron 33 y 44 ppm para material quitinoso de chapulín y de camarón, respectivamente, indicando que para sistema de colorante ABC el pH 2.0 favorece la adsorción esto posiblemente se le atribuye a la interacción carga del ABC con el material quitinoso.

Cabe señalar que el tiempo para alcanzar los valores máximos observados de adsorción variaron dependiendo de la fuente, pues mientras que para chapulín son necesarios cerca de 20 h para camarón fueron necesarias alrededor de 40 h para llegar a la concentración máxima adsorbida.

El análisis de varianza (Anexo. 5) arrojó que para el caso específico de DNS la fuente sí afecta la capacidad de adsorción, mientras que para ABC no mostró diferencia significativa, resultados que también se pueden apreciar en la Figuras 17 y 18. En ambos sistemas muestra que el factor que más afecta la capacidad de adsorción es la concentración.

A partir de los resultados de las figuras 17 y 18 se obtuvieron los parámetros que se muestran en la Tabla 8 para los ajustes de los modelos matemáticos de isothermas de Langmuir y Freundlich que de acuerdo a la literatura son los que describen mejor el fenómeno de adsorción con quitosano.

Tabla 8. Ecuaciones resultantes de las cinéticas de adsorción en sistemas por lote

Cinética	Ecuación q_e vs C_e	c	kd/qm (unidades)	Ecuación $\log C_e$ vs $\log q_e$
Ch2DNS	$y = 0.941x + 0.4605$	0.4605	0.9410	$y = 3.2823x + 0.112$
Cam2DNS	$y = 0.5382x + 0.4863$	0.4863	0.5382	$y = 3.8127x - 0.0996$
Ch4DNS	$y = 0.3354x + 0.203$	0.2030	0.3354	$y = 2.2416x - 0.4208$
Cam4dDNS	$y = 0.6261x + 0.1419$	0.1419	0.6261	$y = 1.6885x - 0.2298$
Ch2ABC	$y = 2.6195x - 0.0062$	0.0062	2.6195	$y = 0.8912x + 0.4959$
Cam2ABC	$y = 2.8866x - 0.0109$	0.0109	2.8866	$y = 0.977x + 0.4435$
Ch4ABC	$y = 3.1808x - 0.0145$	0.0145	3.1808	$y = 0.8059x + 0.6248$
Cam4ABC	$y = 2.5158x - 0.0051$	0.0051	2.5158	$y = 1.0346x + 0.3544$

Nota: Ch y Cam: chapulín y camarón, 2 y 4: pH, DNS y ABC: ácido dinitrosalicílico y azul brillante de Coomassie. q_e : unidades, C_e : unidades

La **Tabla 9** muestra los valores para las constantes de cada isoterma y comparados con los valores de adsorción máxima (Q_{max}) reportados por Gallardo *et al.*, (2011) son menores para el colorante DNS pero superiores para ABC.

Teniendo en cuenta el factor de correlación (R^2) se considera que para el criogel de quitosano de chapulín con DNS a pH 2 (Ch2DNS) las isothermas de adsorción responden al modelo de Langmuir ($R^2 = 0.9997$).

Por otro lado, los criogeles de quitosano de camarón a pH 2 y 4 para DNS y ABC (Cam4DNS y Cam2ABC), respectivamente las isothermas se ajustaron al modelo de Freundlich ($R^2 = 0.987$) (**Tabla 9**).

Tabla 9. Constantes para ajustar a modelos matemáticos.

Adsorbente	Langmuir			Freundlich		
	Qmax (mg/g)	b (Kd)	R ²	K	n	R ²
Ch2DNS	2.1715	2.0434	0.9997	0.1120	3.2823	0.9841
Cam2DNS	2.0563	1.1067	0.9073	0.0996	3.8127	0.9074
Ch4DNS	4.9261	1.6522	0.9409	0.4208	2.2416	0.9845
Cam4dDNS	7.0472	4.4122	0.9396	0.2298	1.6885	0.9870
Ch2ABC	161.2903	422.5000	0.8714	0.4959	0.8912	0.8292
Cam2ABC	91.7431	264.8256	0.9647	0.4435	0.9770	0.9870
Ch4ABC	68.9655	219.3655	0.9750	0.6248	0.8059	0.9306
Cam4ABC	196.0784	493.2941	0.8781	0.3544	1.0346	0.8892

El valor del parámetro RL para los criogeles de quitosano de camarón y chapulín con los colorantes DNS y ABC a pH 2.0 y 4.0, se ajustaron al modelo de Langmuir, calculados con la **Ecuación 2** y con los valores de la **Tabla 10** varían de 0,09 (Co=20 ppm) a 0.66 (Co=5 mg/L) lo cual sugiere que la adsorción es favorable en todo el rango de concentraciones de los colorantes utilizados (**Tabla 10**).

Tabla 10. Valor del parámetro RL según el modelo Langmuir

Adsorbente	Co=5ppm	Co=10ppm	Co=15ppm	Co=20ppm
Ch2DNS	0.6410	0.4716	0.3731	0.3086
Cam2DNS	0.6675	0.5010	0.4009	0.3342
Ch4DNS	0.3221	0.1920	0.1367	0.1062
Cam4dDNS	0.4653	0.3032	0.2248	0.1786
Ch2ABC	0.2873	0.1678	0.1185	0.0915
Cam2ABC	0.3108	0.1839	0.1306	0.1013
Ch4ABC	0.2424	0.1379	0.0964	0.0740
Cam4ABC	0.3607	0.2200	0.1583	0.1236

Zúñiga-Zamora *et al.* (2016) realizaron experimentos de adsorción con quitina y quitosano para el colorante rojo Congo obteniendo los mejores resultados con quitosano a una temperatura de 30°C a pH 7.0 en una cinética de 3 h, reportando

capacidad máxima de 320 mg/g siendo mayor a la que se obtuvo en el presente trabajo; pues la desacetilación deja libre grupos amino que interactúan con el colorante mismos que en el criogel del presente trabajo están mayormente saturados con el agente entrecruzante que disminuye su capacidad de adsorción pero le brinda una estructura más fácil de manipular al término de la adsorción.

Gallardo *et al.* (2011) reportaron valores de adsorción bajos para hidrogeles de quitosano, siendo la máxima de 7.94 mg/g, en comparación a los obtenidos en el presente trabajo, lo cual posiblemente se deba a que el material que evalúan no posee las características de los criogeles que favorecen la adsorción.

8.5. Adsorción en sistemas de lecho fijo

Se evaluó el comportamiento de la adsorción de los colorantes en un prototipo de columna de adsorción en lecho fijo, como se muestra en la **Figura 19**, utilizando una solución de alimentación de 20 ppm a diferentes valores de pHs (2.0 y 4.0) y utilizando columnas de quitosano (chapulín y camarón).

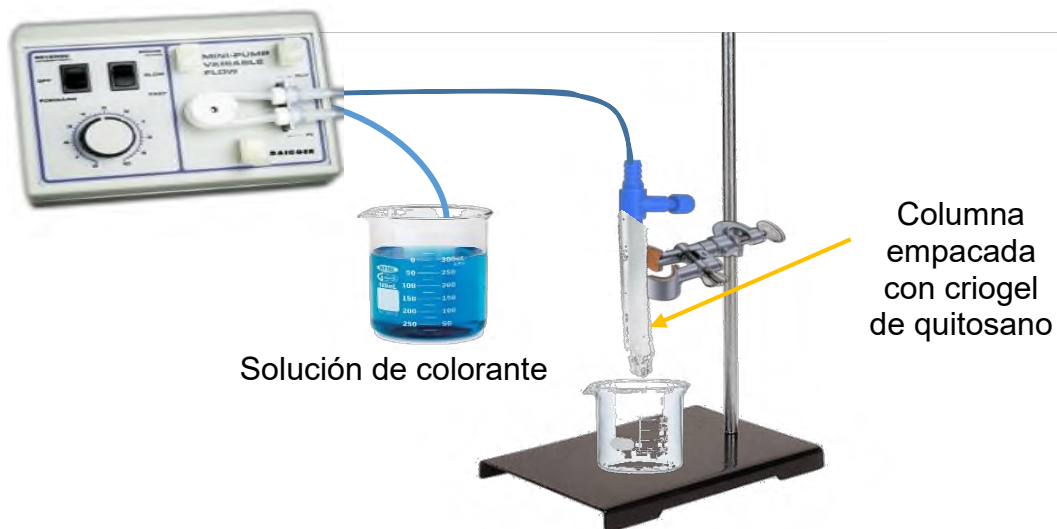


Figura 19. Prototipo de adsorción en lecho fijo

El análisis de varianza en la adsorción de ABC (**Anexo 6**) indica que la fuente del material quitinoso no influye en la capacidad de adsorción en el sistema (prototipo) en lecho fijo, por el contrario del pH que si afecta la efectividad de la adsorción.

La comparación múltiple de medias utilizando el método de Tukey con una significancia de 0.05 nos permitió apreciar la fuente en el sistema en lecho fijo (prototipo) para ABC no mostró una diferencia significativa, a diferencia del pH que, si muestra grupos de medias diferentes, siendo mejor el sistema a pH 2.

Las cinéticas para ABC se ilustran en la **Figura 20**, Donde podemos apreciar que la adsorción se ve favorecida a pH 4.0, independientemente de la fuente del material.

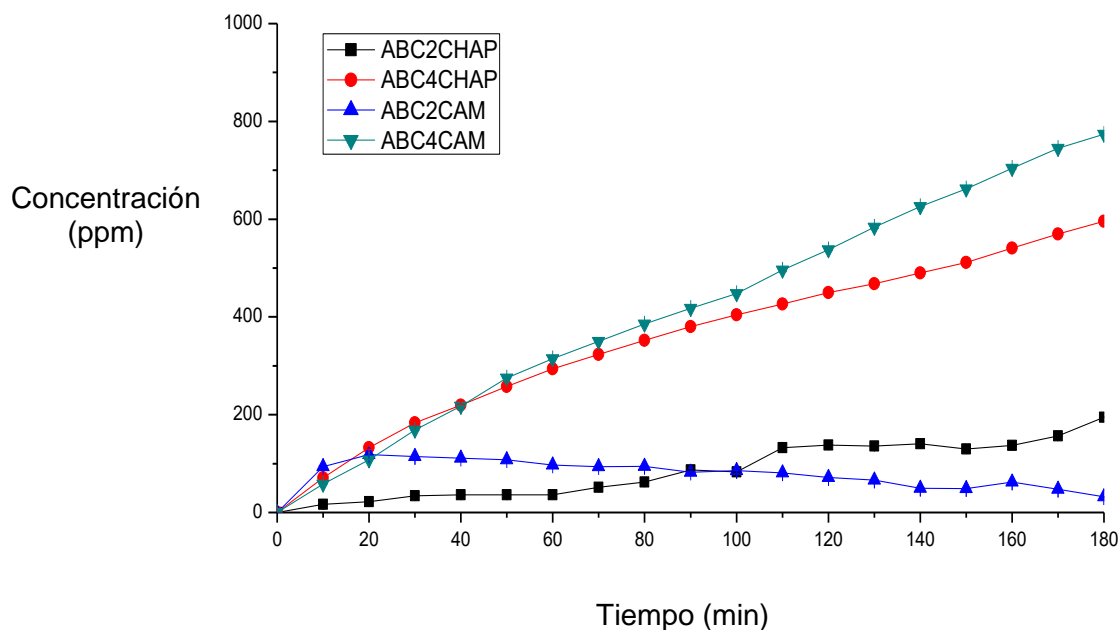


Figura 20. Cinéticas de adsorción de ABC en sistemas de lecho fijo

Para el DNS (**Figura 21**) se observaron perfiles muy similares para las cuatro condiciones evaluadas; también que la fuente de quitosano no tuvo efecto en la adsorción del colorante y que la efectividad de ésta estuvo influenciada por el pH

de la solución de colorante, datos que se analizaron mediante un ANOVA (**Anexo. 7**).

Se realizó una comparación múltiple de medias por el método de Tukey, el cual nos permitió observar que en el sistema en columna (prototipo) para DNS, no hay una diferencia significativa en cuanto a la fuente del material quitinoso, a diferencia del pH que, si muestra grupos de medias diferentes, siendo mejor el sistema en este caso el pH de 2.0, efecto contrario que el presentado en la adsorción de ABC, lo cual puede atribuírsele al medio diferente ya que ABC se trabajó en un medio alcohólico y DNS en agua.

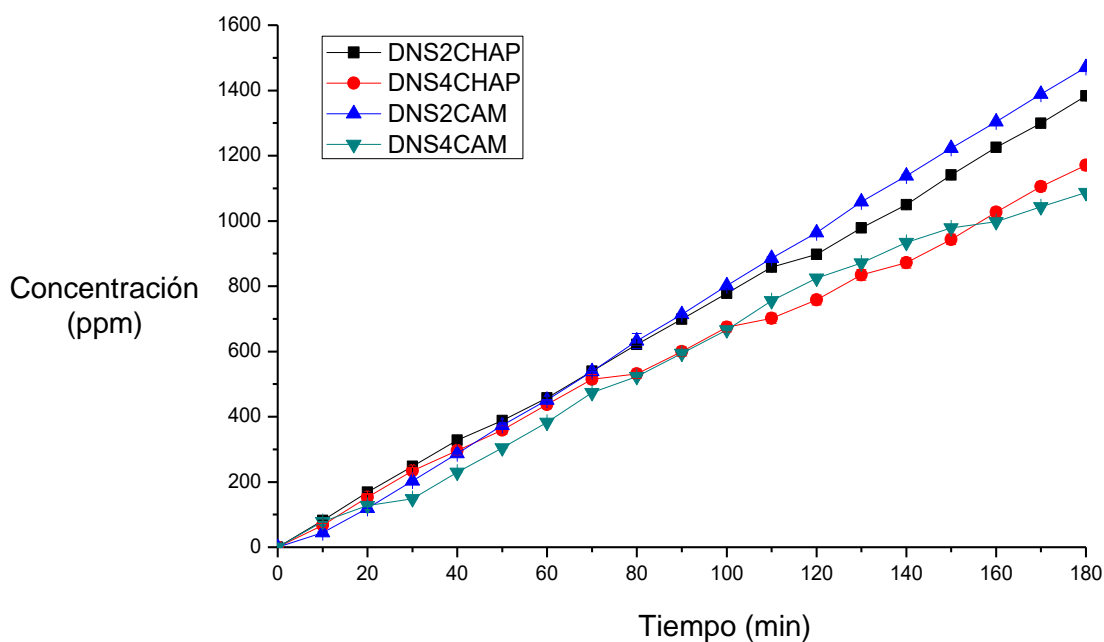


Figura 21. Cinéticas de adsorción de DNS en sistema de lecho fijo

Se presentan en la **Tabla 11** (en valores de mg/g) los valores alcanzados de adsorción en el presente trabajo en ambos sistemas. Éstos valores son inferiores a los reportados por Wong *et al.* (2004) quienes obtuvieron una adsorción de 645.1, 922.9, 973.33, 693.2 y 728.2 mg/g con quitosano de cangrejo en solución para los colorantes ácidos AG25, AO10, AO12, AR18 y AR73, respectivamente,

pero como ventaja se muestra la facilidad de manipulación del material una vez acabada la adsorción.

Tabla 11. Adsorción máxima alcanzada con criogeles de quitosano

Sistema	Quitosano (Qs)	Absorbato	Adsorción máxima alcanzada (mg/g)
Por lote	Criogel Qs- C ₅ H ₈ O ₂	DNS	161.290
	Criogel Qs- C ₅ H ₈ O ₂	ABC	196.078
Lecho fijo	Criogel Qs- C ₅ H ₈ O ₂	DNS	377.533
	Criogel Qs- C ₅ H ₈ O ₂	ABC	767.838

Gallardo *et al.* (2011) evaluó la capacidad de adsorción de azul de metileno (AM) en hidrogeles de quitosano en columna de lecho empacado con caudales de 1 y 3 mL/min consiguiendo remoción del 19% de la concentración del colorante con una adsorción máxima de 41.7 mg/g con hidrogeles de quitosano, estando por debajo a lo reportado en el presente trabajo. Los hidrogeles tienen poca disponibilidad de sitios activos para la adsorción, esto es posible debido a que los hidrogeles presentan poros más pequeños que los criogeles Lozinsky (2008).

Auta y Hameed (2012) elaboraron quitosano evaluando su capacidad de adsorción a diferentes temperaturas, reportando a 30°C una capacidad de adsorción máxima de 103 y 193 mg/g para los colorantes AM y azul ácido 29 (AA29) respectivamente, resultados similares a los obtenidos en el presente trabajo.

En el trabajo realizado en columna con una altura de 3.6 cm con un caudal fijo de 5 mL/min reportan absorción de 376.72 y 531.07 mg/g para AM y AA29 datos que concuerdan con el presente trabajo en el sistema en columna como una buena alternativa para concentrar y retirar este tipo de moléculas de sistemas acuosos.

En cuanto a el sistema en columna se reporta una buena adsorción comparado con el reportado por Treybal *et al.* (1988) considerando que el caudal usado para el presente trabajo fue la mitad del reportado por ellos, además de que el tiempo

en que se alcanzó la absorción obtenida en el presente trabajo fue de 180 minutos diferencia del reportado que fue alcanzado cerca de los 250 minutos.

8.6. Microscopía

Las imágenes obtenidas mediante microscopía nos dan un acercamiento para conocer la superficie del material empleado, así como la configuración que adquiere la matriz una vez que es entrecruzada (**Figura 22 y 23**).

En la **Figuras 22** se muestra la superficie del quitosano liofilizado después de su purificación (a y b) logrando apreciar que en el caso del camarón se muestran superficies más definidas. Para el caso de c y d donde se muestran los cortes de los hidrogeles en este caso un criogel obtenido por liofilización.

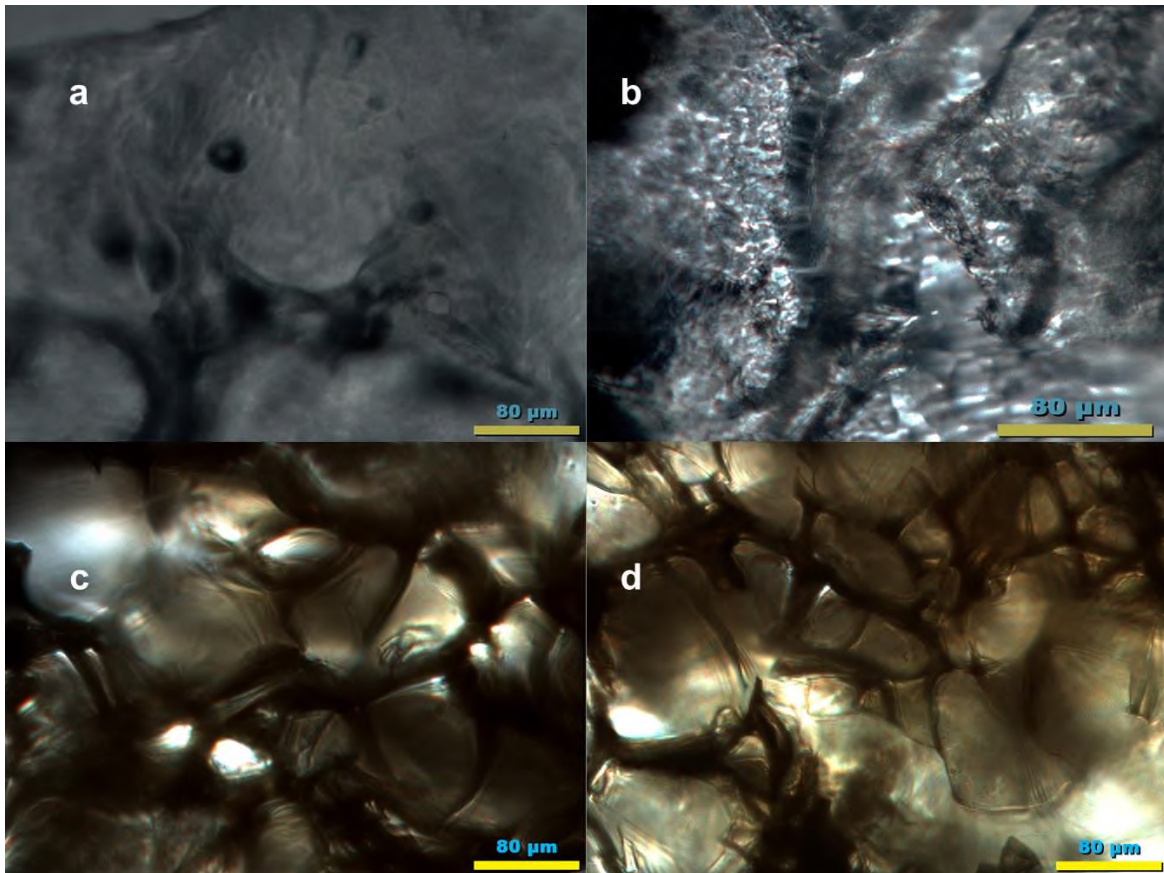


Figura 22. Microscopia de quitosanos y criogeles secos, a) Superficie de quitosano de camarón seco; b) Superficie de quitosano de chapulín seco; c) Vista de criogel seco de quitosano de camarón; d) Vista de criogel seco de chapulín.

En la **Figura 23** apreciamos las diferencias existentes entre el criogel y el mismo cuando tras la absorción de agua en el equilibrio. Durante las observaciones se realizó la medición del tamaño de poro de los diferentes criogeles (**Tabla 11**) los cuales no mostraron diferencias significativas (**Anexo. 8**) evidenciando que ni la fuente de cual proviene ni el estado de criogel, así como la interacción entre ellos afectan el tamaño de poro.

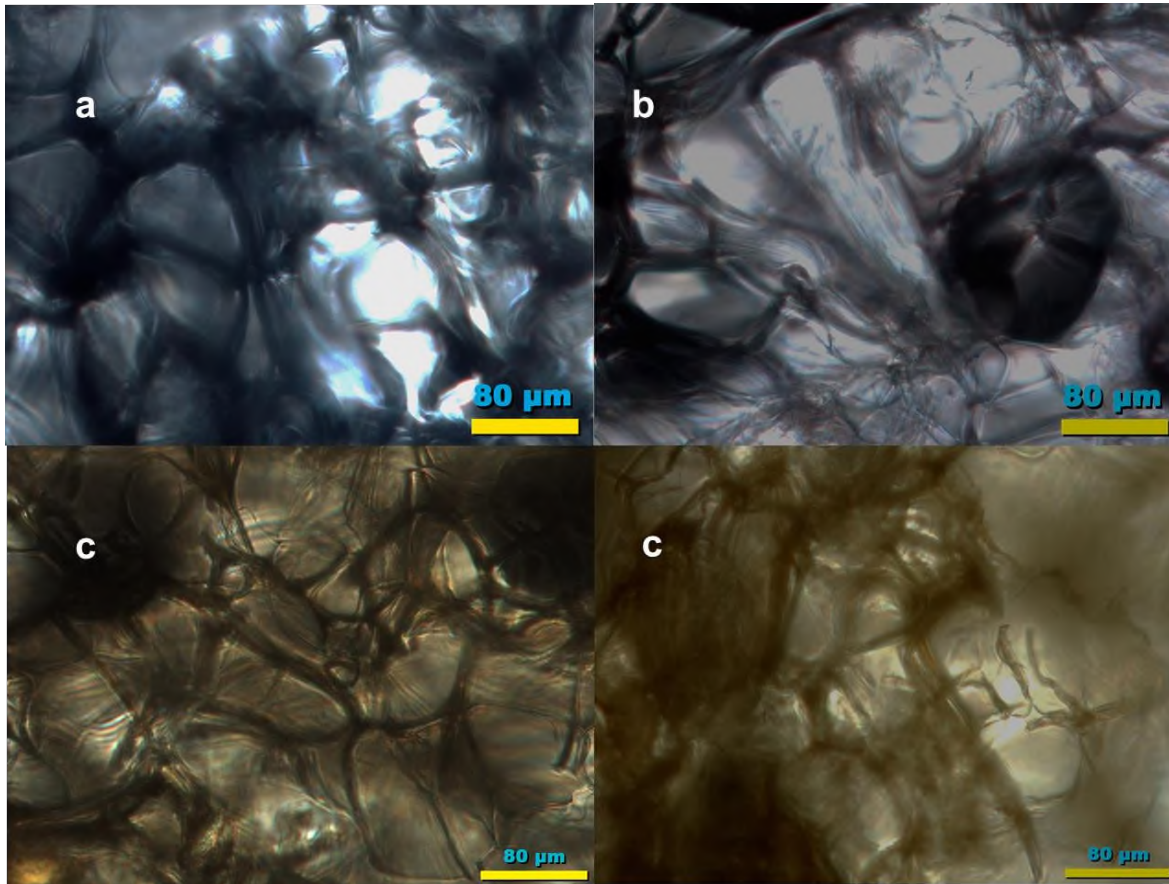


Figura 23. Microscopia del corte transversal de criogeles secos e hinchados, a) camarón seco; b) camarón hinchado con agua; c) chapulín seco; d) chapulín hinchado con agua.

A partir de las **Figuras 22 y 23** se determinaron el área, largo y ancho de los poros de los criogeles (**Tabla 12**). Cabe resaltar que, aunque no existió diferencia significativa en las áreas de los poros formados en el criogel, se logró observar un cambio de forma causado por el hinchamiento, pues si bien se formó una matriz muy estable el ingreso del fluido causó que el poro se volviera más ovalado. Esto se pudo evidenciar con el ancho y longitud de los poros.

Tabla 12. Tamaño de poro de los criogeles.

Estado	Fuente	Área (μm^2)	Largo (μm)	Ancho (μm)
Seco	Camarón	7870 \pm 1645 ^a	102.82 \pm 17.42	70.93 \pm 12.63
	Chapulín	7336 \pm 1690 ^a	115.65 \pm 11.22	63.18 \pm 10.55
hinchado	Camarón	7845 \pm 1045 ^a	148.67 \pm 14.32	54.46 \pm 9.01
	Chapulín	8525 \pm 2557 ^a	115.64 \pm 12.93	80.47 \pm 11.90

Belavtseva (1984) evaluó las características de diferentes criogeles usando distintos microscopios para observar los niveles de organización estructural que poseían, mediante microscopía óptica logró observar macroporos de forma oval con tamaños de 10-30 μm en seco y 50-80 μm hinchados, en contraste con los elaborados en el presente trabajo que en estado seco median alrededor de 100-120 μm de largo y de 60-70 μm de ancho y al hincharse mantenían una de las dos medidas y se mostró solo el aumento del ancho o el largo del poro.

Se logra apreciar en las imágenes de los criogeles el carácter interconectado de los poros, característica que vuelve atractivo este tipo de materiales para la creación de matrices cromatografías continuas según lo reportado por Lozinsky (2008).

En el caso de la **Figura 24** se ilustra la adsorción en diferentes momentos y superficies mediante imágenes de criogeles después de estar en contacto con ABC. En la **Fig 24a** se aprecia el poro que contiene colorante pues fue cortado de una columna con una adsorción interrumpida para apreciar el avance del colorante. En la **Fig 24b** el corte vertical de esta misma columna con adsorción interrumpida se logra apreciar el avance de la concentración del colorante a través de la matriz polimérica, siendo menos intenso el color al final de la columna.

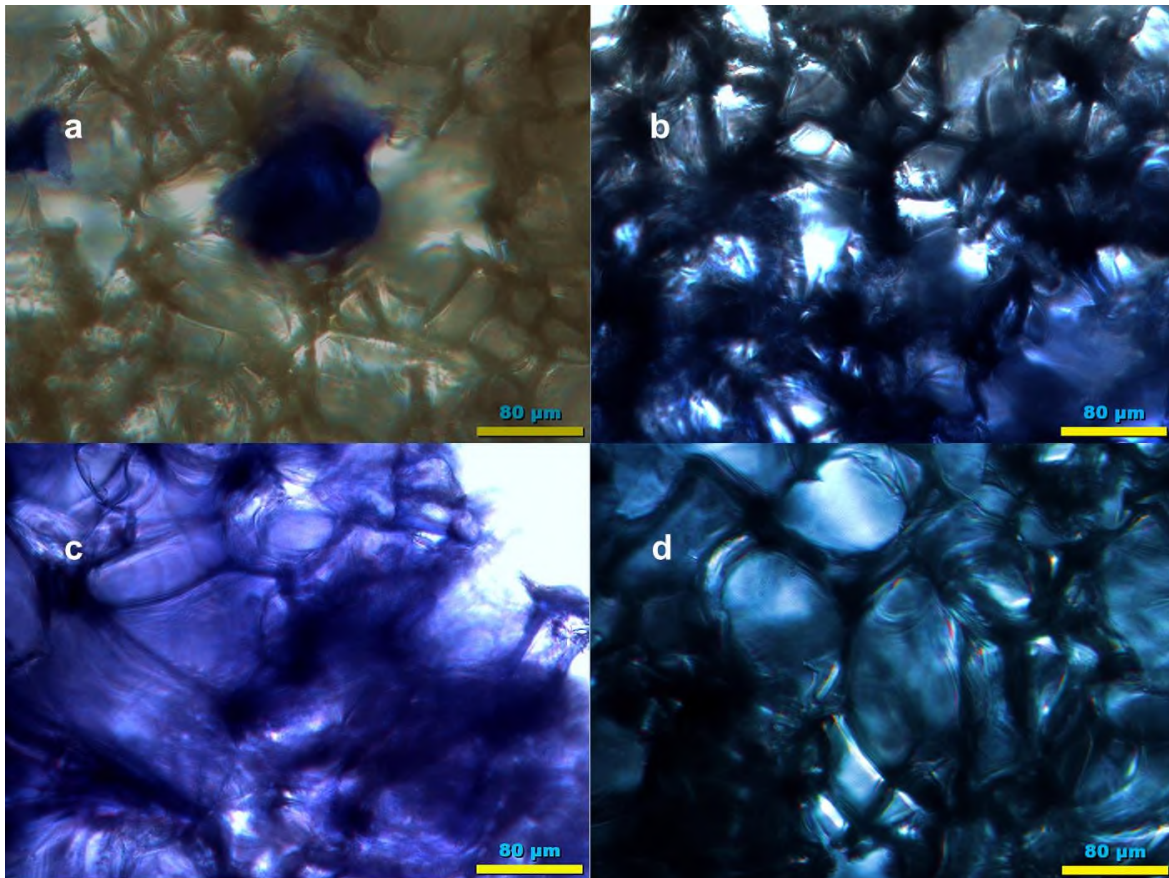


Figura 24. Microscopía del corte transversal del criogel de quitosano de chapulín durante el proceso de adsorción de ABC, a) gota de colorante ABC atrapada en la matriz; b) perfil de adsorción en la matriz; c) Superficie del criogel seco después de la adsorción de ABC; d) Corte transversal de criogel de chapulín hinchado con agua después de la adsorción de ABC.

Esto concuerda con lo reportado por Auta y Hameed (2012) quienes observaron las diferencias en esferas de quitosano antes y después de la adsorción de colorantes AM y AA29 haciendo énfasis en que la concentración del colorante en determinadas zonas está ligada a la intensidad del color que se logra observar dejando ver un perfil conforme avanza el fenómeno de adsorción en la matriz.

IX. CONCLUSIONES

Los resultados de la presente investigación permitieron llegar a las siguientes conclusiones:

Los criogeles de quitosano de chapulín entrecruzado con glutaraldehído presentaron la misma capacidad de adsorción que los criogeles de quitosano de camarón entrecruzado con glutaraldehído en un sistema por lote y lecho fijo, debido a que tuvieron el mismo tratamiento de purificación y elaboración.

El chapulín y las cáscaras de camarón son buenas fuentes para la obtención de quitina con rendimientos de extracción similares, antes de la despigmentación, entre ambas fuentes.

Los materiales quitinosos, desacetilados y purificados, de ambas fuentes permiten la obtención de quitosanos, que de acuerdo a la caracterización no mostraron diferencias significativas en cuanto a su composición fisicoquímica.

Los criogeles elaborados con quitosano entrecruzado con glutaraldehído mostraron que la capacidad de hinchamiento y el tamaño de poro fue independiente de la fuente del quitosano, presentando deformación en la estructura de la red tridimensional causado por el ingreso del fluido.

La adsorción de los colorantes DNS y ABC en soportes de quitosano de chapulín y camarón en un sistema por lote fue independiente de la fuente del material quitinoso pero dependiente del colorante, la concentración y del pH del mismo lo que nos permitió comprobar la hipótesis.

La isoterma de adsorción se ajusta al modelo de Langmuir para los criogeles de criogel de quitosano de chapulín con DNS a pH 2.0 (Ch2DNS) y al modelo de

Freundlich para los criogeles de quitosano de camarón a pH 2.0 y 4.0 para DNS y ABC (Cam4DNS y Cam2ABC).

A través del análisis del parámetro RL la adsorción se ve favorecida para los colorantes DNS y ABC en los criogeles de quitosano de chapulín y camarón.

Valorando la adsorción en un sistema de lecho fijo para la evaluación del prototipo de sistema de adsorción con una columna empacada, podemos concluir que los criogeles de quitosano-glutaraldehído de chapulín sí presentaron la misma capacidad de adsorción que el quitosano de camarón, observando diferencias significativas en la adsorción únicamente atribuidas al pH, siendo el de 2.0 superior para ABC y 4.0 el mejor para DNS.

X. PERSPECTIVAS

- ❖ Implementar metodologías más amigables con el ambiente para la obtención de quitosanos.
- ❖ Evaluar la capacidad de adsorción del polímero entrecruzado con otros colorantes de importancia en la investigación o en la industria.
- ❖ Se sugiere escalar el sistema de adsorción en columna y perfeccionar el prototipo para la adsorción de colorantes para poder ser usado en el tratamiento de aguas.

XI. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar, O., Martínez, C., & Hernández, C. (2010). Remoción de colorantes de efluentes de la industria textil. *Puebla, México*.
2. Alfa Aesar. 2015, noviembre 4. *Ácido 3,5-dinitrosalicílico*, Hoja de seguridad.
3. Alikutty, P., Abdul Mujeeb, V., Zubair, M., Muraleedharan, K. & Mujeeb Rahman, P. (2014). Studies on the sorption capacity for Pb(II) and Hg(II) of citralidene chitosan. *Polymer Bulletin*, 71(8), pp.1919-1932.
4. Amashta, I. A. K., Trabanca, O. K., & Trabanca, D. K. (2005). Materiales inteligentes: Hidrogeles macromoleculares. Algunas aplicaciones biomédicas. *En Anales de la real Sociedad Española de Química*, pp. 35–50. Real Sociedad Española de Química.
5. Aquiahuatl, M., & Pérez, M. (2004). Manual de prácticas de laboratorio de microbiología general. *Universidad Autónoma Metropolitana*, pp. 65-69.
6. Arias Ayala, M. (2014). Evaluación de la presencia de suero láctico como adulterante en la calidad de leche cruda. *Universidad La Salle*, Bogotá, Colombia.
7. Auta, M., & Hameed, B. H. (2013). Coalesced chitosan activated carbon composite for batch and fixed-bed adsorption of cationic and anionic dyes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 105, 199–206.
8. Badawy, M. E. I., & Rabea, E. I. (2011). A Biopolymer Chitosan and Its Derivatives as Promising Antimicrobial Agents against Plant Pathogens and Their Applications in Crop Protection. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*.
9. Beppu, M. M., Vieira, R. S., Aimoli, C. G., & Santana, C. C. (2007). Crosslinking of chitosan membranes using glutaraldehyde: Effect on ion permeability and water absorption. *Journal of Membrane Science*, 301(1–2), pp. 126–130.
10. Bird, R., Lightfoot, E. & Stewart, W. (2006). *Fenómenos de transporte*. Barcelona: Limusa Wiley (No. TP156 B5321).
11. Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F. M., Argüelles-Monal, W., Desbrieres, J., & Rinaudo, M. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer*, 42(8), pp. 3569–3580.
12. Center for History & New Media. (s/f). Guía rápida.

13. Chatterjee, S., Lee, D. S., Lee, M. W., & Woo, S. H. (2009). Enhanced adsorption of Congo red from aqueous solutions by chitosan hydrogel beads impregnated with cetyl trimethyl ammonium bromide. *Bioresource Technology*, 100(11), pp. 2803–2809.
14. Cheung, W. H., Szeto, Y. S., & McKay, G. (2007). Intraparticle diffusion processes during acid dye adsorption onto chitosan. *Bioresource Technology*, 98(15), pp. 2897–2904.
15. Chiou, M. S., & Li, H. Y. (2003). Adsorption behavior of reactive dye in aqueous solution on chemical cross-linked chitosan beads. *Chemosphere*, 50(8), pp. 1095–1105.
16. Christie, R. M. (2001). *Colour chemistry*. Royal Society of Chemistry.
17. Conesa, J. A. (2014). *Valorización energética de residuos*. Experiencia de la UA.pdf.
18. Cortazar-Martínez, A., González-Ramírez, C. A., Coronel-Olivares, C., Escalante-Lozada, J. A., Castro-Rosas, J., & Villagómez-Ibarra, J. R. (2012). Biotecnología aplicada a la degradación de colorantes de la industria textil. *Universidad y ciencia*, 28(2), pp. 187–199.
19. Crini, G., & Badot, P.-M. (2008). Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature. *Progress in Polymer Science*, 33(4), pp. 399–447.
20. Cruz-Romero, M. C., Murphy, T., Morris, M., Cummins, E., & Kerry, J. P. (2013). Antimicrobial activity of chitosan, organic acids and nano-sized solubilisates for potential use in smart antimicrobially-active packaging for potential food applications. *Food Control*, 34(2), pp. 393–397.
21. de la Paz, N., Fernández, M., López, O. D., Nogueira, A., García, C. M., Pérez, D., & Díaz, D. (2012). Optimización del proceso de obtención de quitosano derivada de la quitina de langosta. *Revista Iberoamericana de polímeros*, 13(3).
22. de la Paz, N., Pérez, D., Fernández, M., López, O. D., Nogueira, A., Paneque, M. R., & García, C. M. (2013). Evaluación viscosimétrica del quitosano derivado de la quitina de langosta. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 14(2), 84–91.

23. Denizli, A., & Pişkin, E. (2001). Dye-ligand affinity systems. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 49(1–3), pp. 391–416.
24. Devlieghere, F., Vermeulen, A., & Debevere, J. (2004). Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, 21(6), pp. 703–714.
25. Díaz, Á., & Fernanda, L. (2014). Caracterización y evaluación de quitosano como potencial biomaterial para aplicaciones en ingeniería de tejidos.
26. Donato, N. R., Marmolejo, R. de J. C., Lemus, R. C. G., Aquino, A. B., Gaytán, B. G., & Mijares, E. M. (2013). Eliminación de colorantes de disoluciones acuosas utilizando sulfato de quitosano. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 14(5), pp. 257–263.
27. Doonan, S., & Cutler, P. (2004). *Protein purification protocols*, 1–13.
28. Escobar, J. L., García, D. M., Zaldivar, D., & Katime, I. (2002). Hidrogeles. Principales características en el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos. *Revista Iberoamericana*, 3, 3.
29. Escobar Sierra, D. M., Ossa Orozco, C. P., Quintana, M. A., & Ospina, W. A. (2013). Optimización de un protocolo de extracción de quitina y quitosano desde caparzones de crustáceos. *Scientia et Technica*, 18(1).
30. Espinosa Díaz, S., & others. (2016). Evaluación del hidróxido de doble capa (CaAl-LDH-NO₃) para la adsorción de sulfatos presentes en residuos de construcción y demolición (RCD).
31. F. Roberts George A. ((2014)). *Chitin chemistry*, Editorial Palgrave, 368.
32. Flores, J. A., Ly, M., Tapia, N., & Maldonado, H. (2013). Biosorción con quitosano: estudios de equilibrio. *Revista de Química*, 15(2), pp. 133–147.
33. Flores, J. A., Navarro, A. E., Ramos, K. P., Chang, L., Ale, N., Ly, M., & Maldonado, H. J. (2005). Adsorción de Cu (II) por quitosano en polvo y perlas de gel. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 71(1), pp. 17–25.
34. Foo, K. Y., & Hameed, B. H. (2010). Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. *Chemical Engineering Journal*, 156(1), pp. 2–10.
35. Gallardo, E., Maioco, S., & Francois, N. (2008). Remoción de un colorante básico por adsorción con Quitosano y con un material compuesto de Quitosano-Zeolita.

36. García-González, R., Zavala-Arce, R. E., Ávila-Pérez, P., García-Gaitán, B., González-Chávez, J. L., Muro-Urista, C., & Luna-Bárceñas, G. (2014). Síntesis y caracterización de un material criogénico a partir de quitosano y celulosa. *Afinidad*, 71(567).
37. García-Rivas, L., Gaitán, B. G., Cruz, R. C. A., Arce, R. E. Z., Granados-García, M., Dadó-Lujano, I. I., & Bárceñas, J. G. L. (2010). Síntesis y caracterización de esferas de quitosano-EGDE-PVA para adsorción de Cu (II). *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 11(7), pp. 541–549.
38. Geankoplis, C. J. (1998). Procesos de transporte y operaciones unitarias. Compañía Editorial Continental.
39. Giraldo Juan D. (s/f). Propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del quitosano.
40. Goy, R. C., Britto, D. de, & Assis, O. B. (2009). A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros*, 19(3), pp. 241–247.
41. Guerrero, R. F. E., Torres, D. L., Anaya, D. M., & Lugo, V. R. (2011). Hidrogeles biopoliméricos potencialmente aplicables en agricultura. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 12(2), pp. 76–87.
42. Guezzuez, I., Dridi-Dhaouadi, S., & Mhenni, F. (2009). Sorption of Yellow 59 on *Posidonia oceanica*, a non-conventional biosorbent: Comparison with activated carbons. *Industrial Crops and Products*, 29(1), pp. 197–204.
43. Gurusamy Annadurai, & Lai Yi Ling, Jiunn-Fwu Lee. (2008). Adsorption of reactive dye from an aqueous solution by chitosan: isotherm, kinetic and thermodynamic analysis. *Journal of Hazardous Materials* 152, pp. 337–346.
44. Hernández Cocolletzi, H., Águila Almanza, E., Flores Agustin, O., Viveros Nava, E. L., & Ramos Cassellis, E. (2009). Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. *Superficies y vacío*, 22(3), pp. 57-60.
45. Ho, Y. (2006). Review of second-order models for adsorption systems. *Journal of Hazardous Materials*, 136(3), pp. 681–689.
46. Ho, Y.-S., & McKay, G. (2000). The kinetics of sorption of divalent metal ions onto sphagnum moss peat. *Water research*, 34(3), pp. 735–742.

- 47.Honarkar, H., & Barikani, M. (2009). Applications of biopolymers I: chitosan. *Monatshefte Für Chemie - Chemical Monthly*, 140(12), pp. 1403.
- 48.Hussain, R. M., Iman, M., & Maji, T. K. (2013). Determination of degree of deacetylation of chitosan and their effect on the release behavior of essential oil from chitosan and chitosan-gelatin complex microcapsules. *International Journal of Advanced Engineering Applications*, 6(4), pp. 4–12.
- 49.Ing. L. Y., Zin, N. M., Sarwar, A., & Katas, H. (2012). Antifungal Activity of Chitosan Nanoparticles and Correlation with Their Physical Properties. *International Journal of Biomaterials*.
- 50.Ivanov, R. V., Lozinsky, V. I., Noh, S. K., Han, S. S., & Lyoo, W. S. (2007). Preparation and characterization of polyacrylamide cryogels produced from a high-molecular-weight precursor. I. Influence of the reaction temperature and concentration of the crosslinking agent. *Journal of applied polymer science*, 106(3), pp. 1470-1475.
- 51.Krishnapriya, K. R., & Kandaswamy, M. (2010). A new chitosan biopolymer derivative as metal-complexing agent: synthesis, characterization, and metal (II) ion adsorption studies. *Carbohydrate research*, 345(14), pp. 2013-2022.
- 52.Kumar, M. N. R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and functional polymers*, 46(1), pp. 1–27.
- 53.Lárez-Velásquez, C., & Velasquez, C. L. (2006). Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro. *Avances en química*, 1(2), pp. 15–21.
- 54.Liu, S., Sun, J., Yu, L., Zhang, C., Bi, J., Zhu, F. & Yang, Q. (2012). Extraction and characterization of chitin from the beetle *Holotrichia parallela motschulsky*. *Molecules*, 17(4), pp. 4604-4611.
- 55.Lozinsky, V. I. (2002). Cryogels on the basis of natural and synthetic polymers: preparation, properties and application. *Russian Chemical Reviews*, 71(6), pp. 489-511.
- 56.Lozinsky, V. I. (2008). Polymeric cryogels as a new family of macroporous and supermacroporous materials for biotechnological purposes. *Russian Chemical Bulletin*, 57(5), pp. 1015-1032.

57. Lozinsky, V. I., Vainerman, E. S., & Rogozhin, S. V. (1982). Study of cryostructurization of polymer systems. *Colloid and Polymer Science*, 260(8), pp. 776-780.
58. Lozinsky, V. I., Vainerman, E. S., Titova, E. F., Belavtseva, E. M., & Rogozhin, S. V. (1984). Study of cryostructurization of polymer systems. *Colloid and Polymer Science*, 262(10), pp. 769-774.
59. María Jesús Hortigüela Gallo. (2009). Estructuras tridimensionales porosas de mwcnts con aplicaciones en biomedicina y en biotecnología. *Universidad de burgos, burgos*.
60. Martínez Estrada M.T. y Moctezuma Gonzales C. (2006). *Espectrofluorimetría*, SILBERMAN, D. R. P. S. Universidad Autónoma de México. 21.
61. Martínez, O. A., Hernández, C. Á., & Gómez, R. R. (2010). *Licenciatura en Ingeniería Química*.
62. Matteini, M., & Moles, A. (2001). *La química en la restauración: los materiales del arte pictórico* (Vol. 7). Editorial Nerea.
63. Medina, E. C., Hinojos, A. M. G., & Rodríguez, A. V. (2011). Estudio de la remoción del colorante azul de metileno empleando la biomasa de la morinda *Citrocifolia L. Quivera*, 13(2), pp. 52–62.
64. Moeller Chávez, G., Sandoval Yoval, L., & Mijaylova Nacheva, P. (2013). Evaluación de diferentes procesos de tratamiento para la remoción de colorantes sintéticos utilizados en la industria textil.
65. Mona, S., Kaushik, A., & Kaushik, C. P. (2011). Waste biomass of *Nostoc linckia* as adsorbent of crystal violet dye: Optimization based on statistical model. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(3), pp. 513–521.
66. Monter-Miranda, J. G., Tirado-Gallegos, J. M., Zamudio-Flores, P. B., Rios-Velasco, C., Ornelas-Paz, J. D. J., Salgado-Delgado, R. y Hernández-Centeno, F. (2016). Extracción y caracterización de propiedades fisicoquímicas, morfológicas y estructurales de quitina y quitosano de *Brachystola magna* (Girard). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(3).

67. Muñoz Tapia A. (2012), Estudio de las propiedades de criogeles de quitosana y N-isopropilacrilamida, Tesis para obtener el grado de Ingeniero Químico, *Instituto tecnológico de los Mochis, Los Mochis, Sinaloa, México*.
68. Muzzarelli, R. A. A. (2011). Chitosan composites with inorganics, morphogenetic proteins and stem cells, for bone regeneration. *Carbohydrate Polymers*, 83(4), pp. 1433–1445.
69. Muzzarelli, R. A. A., Boudrant, J., Meyer, D., Manno, N., DeMarchis, M., & Paoletti, M. G. (2012). Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), pp. 995–1012.
70. Navarro, A. E., Manrique, Á., Iparraguirre, E., Díaz, C., Jacinto, C., Cuizano, N., & Llanos, B. P. (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), pp. 313-321.
71. Ortega Bueno, A., & Sacristán Cid, J. (2011). Diseño y construcción de una columna de adsorción con sepiolita. Diseño y construcción de una columna de adsorción con atapulgita. (Tesis de Licenciatura)
72. Pacheco, N. (2010). Extracción biotecnológica de quitina para la producción de quitosanos: caracterización y aplicación. Universidad Autónoma Metropolitana.
73. Partida, J. C. T., & Aranda, A. C. R. (2013). Cuantificación y recuperación de las fracciones de alto valor agregado de desechos de cutícula de camarón, con énfasis en la proteína.
74. Peñaloza, R., & Libardo, E. (2012). Obtención de hidrogeles de quitosano a partir del micelio de *Aspergillus niger* y su estudio en la liberación controlada de cefalexina.
75. Pérez, H. M. G. (2000). Electroforesis en geles de poli(acrilamida): fundamentos, actualidad e importancia. *Universo Diagnóstico*, 1(2), pp. 31–4.
76. Pinzón, N., Espinosa, A., Perilla, J., Hernáez, E., & Katime, I. (2002). Modelamiento del hinchamiento y Difusión de Solutos en Hidrogeles. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 3(2), pp. 38–54.

77. Ramírez Coutiño, L. P. (2009, enero 16). Producción de quitinasas y proteasas de *Verticillium fungicola* y su evaluación en la hidrólisis de quitina para la producción de quitin -oli gómeros. *Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa, México, D.F.*
78. Raymond, L., Morin, F. G., & Marchessault, R. H. (1993). Degree of deacetylation of chitosan using conductometric titration and solid-state NMR. *Carbohydrate Research*, 246(1), 331–336.
79. Rhazi, M., Desbrieres, J., Tolaimate, A., Rinaudo, M., Vottero, P., Alagui, A., & El Meray, M. (2002). Influence of the nature of the metal ions on the complexation with chitosan. Application to the treatment of liquid waste. *European Polymer Journal*, 38(8), pp. 1523–1530.
80. Rinaudo, M. (2004). Advances in characterisation of polysaccharides in aqueous solution and gel state. *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility*, pp. 237–252.
81. Rinaudo, M., Milas, M., & Le Dung, P. (1993). Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion. *International Journal of Biological Macromolecules*, 15(5), pp. 281–285.
82. Roberts, G. A. (1992). Analysis of chitin and chitosan. *En Chitin chemistry*, pp. 85–115.
83. Robles, M. (s/f). Consecuencias de la incineración y alternativas.
84. Rodríguez Hamamura, N., Valderrama Negrón, A., Alarcón Cavero, H., & López Milla, A. (2010). Preparación de partículas de quitosano reticuladas con tripolifosfato y modificadas con polietilenglicol. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 76(4), pp. 336–354.
85. Rodríguez Hamamura, N., Valderrama Negrón, A., Alarcón Cavero, H., & López Milla, A. (2010). Preparación de partículas de quitosano reticuladas con tripolifosfato y modificadas con polietilenglicol. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 76(4), pp. 336-354.
86. Rojas, G., Silva, J., Flores, J. A., Rodríguez, A., Ly, M., & Maldonado, H. (2005). Adsorption of chromium onto cross-linked chitosan. *Separation and Purification Technology*, 44(1), pp. 31–36.

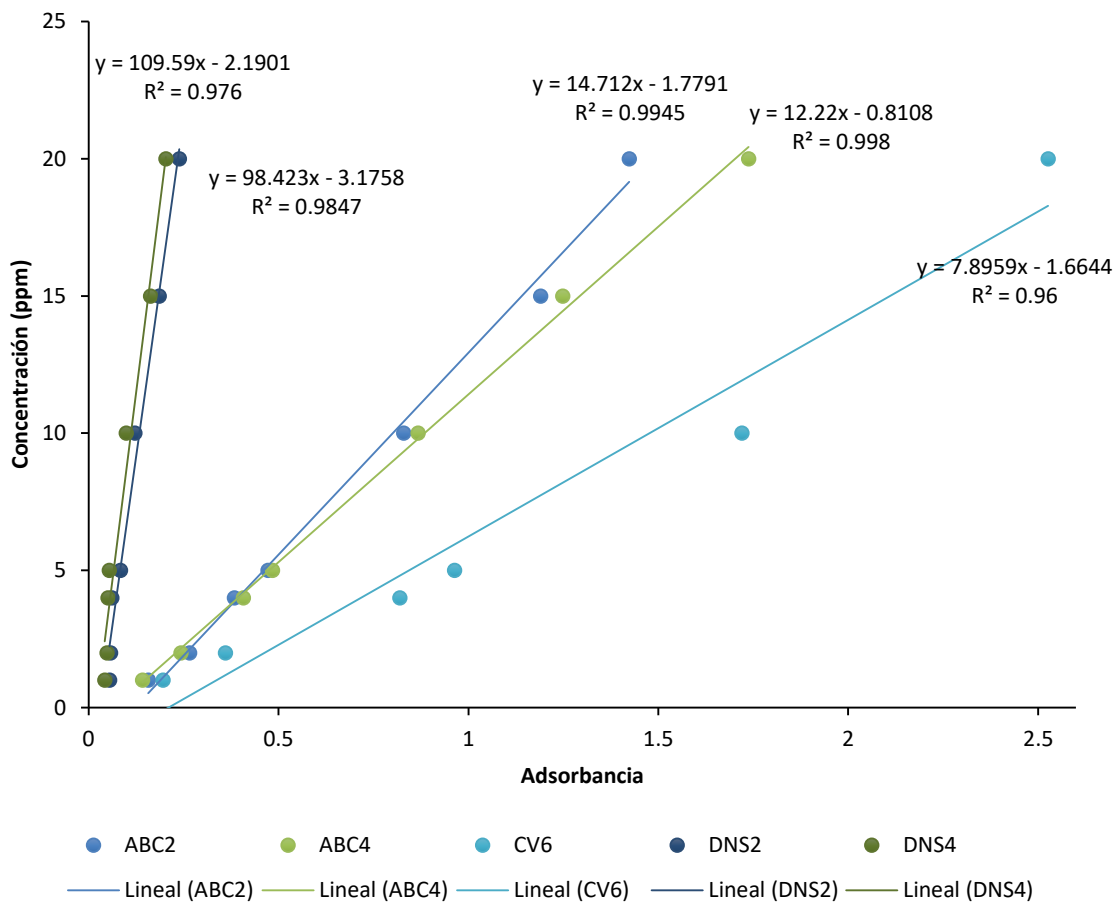
87. Romero-Ortiz, L., Ramírez-Vives, F., Álvarez-Silva, C., & Miranda-Arce, M. G. (2011). Uso de hidrófitas y un sistema anaerobio para el tratamiento de agua residual de rastro. *Polibotánica*, (31), pp. 157-167.
88. Rosas V. M. (1999, agosto 22). *Tipos de isoterma de adsorción*.
89. Ruiz, E., Agudelo, J., Katime, I. A., & Valderruten, N. E. (2012). *Síntesis y caracterización de hidrogeles interpenetrados de quitosano/PNIPA*. V Jornada de Socialización de la Investigación en Icesi.
90. Sánchez, A., Ballesteros, M. R. S., Vega-Baudrit, J. R., & Madrigal, S. (2007a). Síntesis y caracterización de hidrogeles de quitosano obtenido a partir del camarón langostino (*Pleuroncodes planipes*) con potenciales aplicaciones biomédicas. *Revista iberoamericana de Polímeros*, 8(4), pp. 241–267.
91. Sánchez, A., Ballesteros, M. R. S., Vega-Baudrit, J. R., & Madrigal, S. (2007b). Síntesis y caracterización de hidrogeles de quitosano obtenido a partir del camarón langostino (*Pleuroncodes planipes*) con potenciales aplicaciones biomédicas. *Revista iberoamericana de Polímeros*, 8(4), pp. 241–267.
92. Sánchez-Márquez, J. A., Fuentes-Ramírez, R., Esquivel, I. G., Hernández, A. M., & Santos, C. V. (2013). Análisis de la modificación superficial de los nanotubos de carbono sometidos a distintos tratamientos de oxidación. *Acta Universitaria*, 23(1), pp. 17–22.
93. Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., & Jeon, Y.-J. (1999a). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology*, 10(2), 37–51.
94. Sierra, D. M. E., Orozco, C. P. O., & Ospina, W. A. (2013). Optimización de un protocolo de extracción de quitina y quitosano desde caparazones de crustáceos. *Scientia et Technica*, 18(1), pp. 260–266.
95. Skoog A. Douglas, Holler F. James, & Crouch Stanley R. (s/f). Principios de análisis instrumental (Sexta). Cengage Learnig.
96. Soto, D., & Oliva, H. (2012). Métodos para preparar hidrogeles químicos y físicos basados en almidón: Una revisión. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, 32(2), pp. 154–175.
97. Tapia, C., Escobar, Z., Costa, E., Sapag-Hagar, J., Valenzuela, F., Basualto, C. & Yazdani-Pedram, M. (2004). Comparative studies on polyelectrolyte complexes

- and mixtures of chitosan–alginate and chitosan–carrageenan as prolonged diltiazem clorhydrate release systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57(1), pp. 65-75.
98. Tejeda-Mansir, A., Montesinos-Cisneros, R. M., & Guzmán, R. (2011). *Bioseparaciones*. Editorial UNISON, México, 307, 7, pp. 275-356.
99. Tene, Á. E. S. (s/f). *Determinación de proteínas Método Kjeldahl*.
100. Tikhonov, V. E., Stepnova, E. A., Babak, V. G., Yamskov, I. A., Palma-Guerrero, J., Jansson, H.-B., Varlamov, V. P. (2006). Bactericidal and antifungal activities of a low molecular weight chitosan and its N-2(3) - (dodec-2-enyl) succinoyl-derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 64(1), pp. 66–72.
101. Torres-Castillo, J. A., Sinagawa-García, S. R., Lara-Villalón, M., Martínez-Ávila, G. C. G., Mora-Olivo, A., & Reyes-Soria, F. A. (2015). Evaluation of biochemical components from *Pterophylla beltrani* (Bolivar & Bolivar) (Orthoptera: Tettigoniidae): a forest pest from Northeastern Mexico. *Southwestern entomologist*, 40(4), pp. 741-751.
102. Treybal, R. E., García Rodríguez, A., & Lozano, F. J. (1988). Operaciones de tranferencia de masa. *México*, McGraw-Hill.
103. Velásquez, C. L. (2003). Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos. *Revista Iberoamericana de polímeros*, 4(2), p. 91.
104. Vilaseca Vallvé, M. M., López Grimau, V., Gutiérrez Bouzán, M. C., & Crespi Rosell, M. (2015). Métodos de eliminación del color en efluentes de tintura textil. *Revista de Química e Industria Textil*, (212), pp. 22–26.
105. Wong, Y. C., Szeto, Y. S., Cheung, W. H., & McKay, G. (2003). Equilibrium Studies for Acid Dye Adsorption onto Chitosan. *Langmuir*, 19(19), pp. 7888–7894.
106. Wong, Y. C., Szeto, Y. S., Cheung, W. H., & McKay, G. (2004). Adsorption of acid dyes on chitosan equilibrium isotherm analyses. *Process Biochemistry*, 39(6), pp. 695–704.
107. Wu, F.-C., Tseng, R.-L., & Juang, R.-S. (2009). Characteristics of Elovich equation used for the analysis of adsorption kinetics in dye-chitosan systems. *Chemical Engineering Journal*, 150(2–3), pp. 366–373.

108. Yoshida, H., & Takemori, T. (1997). Adsorption of direct dye on cross-linked chitosan fiber: breakthrough curve. *Water science and technology*, 35(7), pp. 29–37.
109. Zúñiga-Zamora, A., García-Mena, J., & Cervantes-González, E. (2016). Removal of Congo Red from the aqueous phase by chitin and chitosan from waste shrimp. *Desalination and Water Treatment*, 57(31), pp.14674-14685.

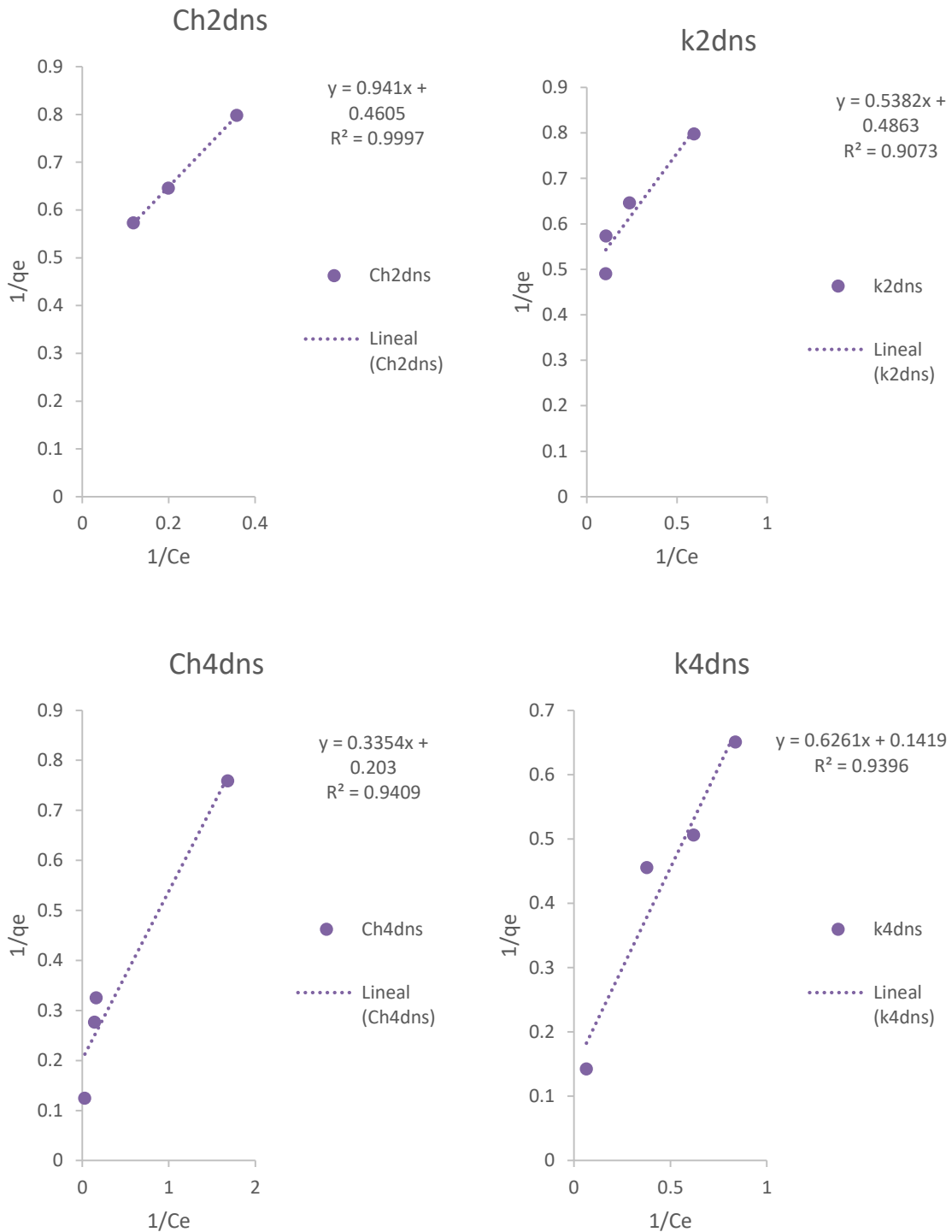
XII. ANEXOS

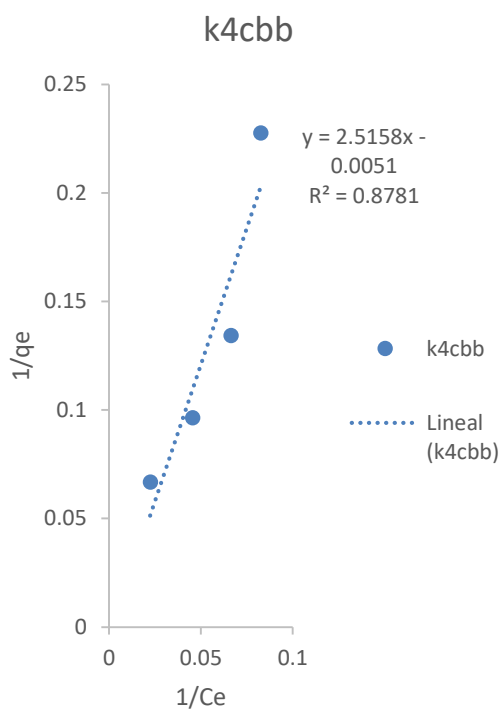
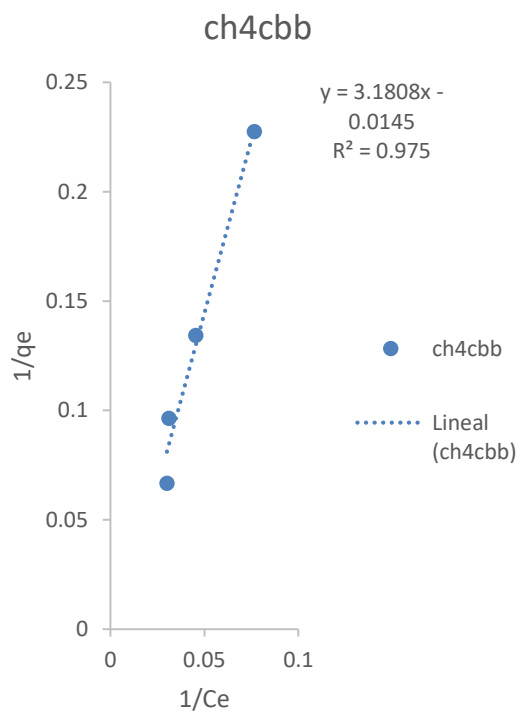
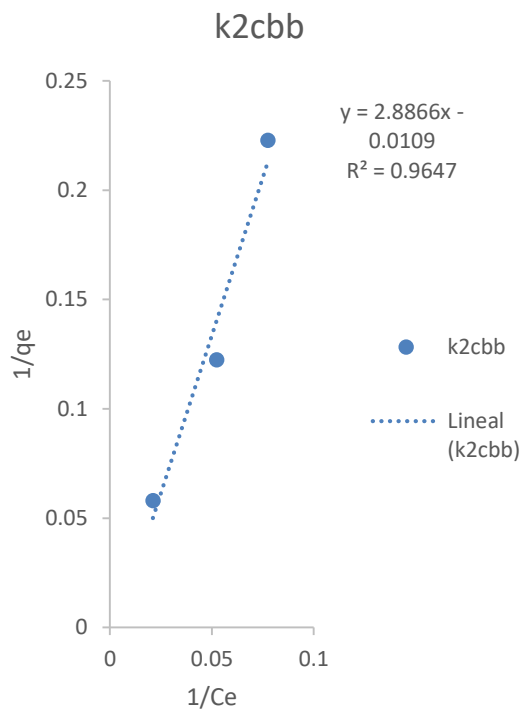
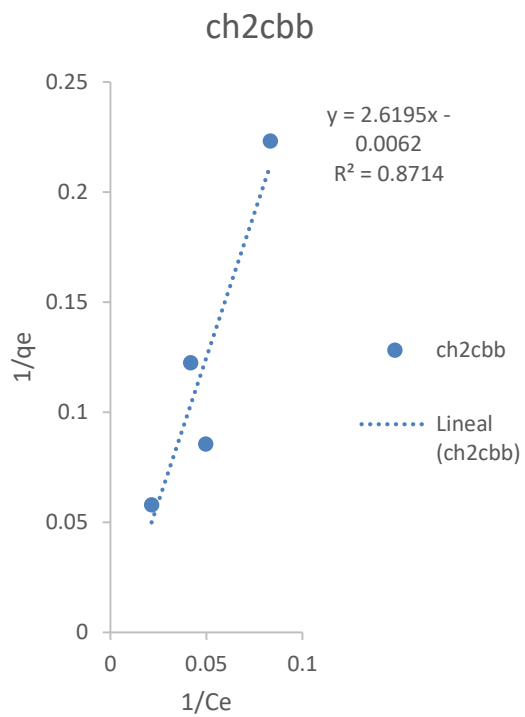
Anexo 1.- Curvas de calibración de colorantes.

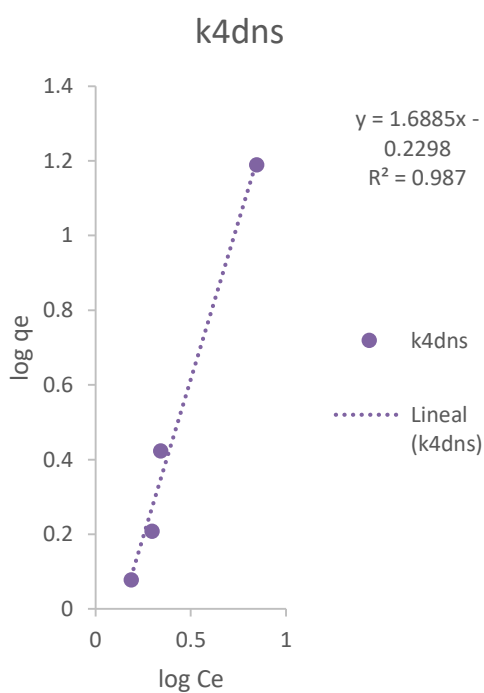
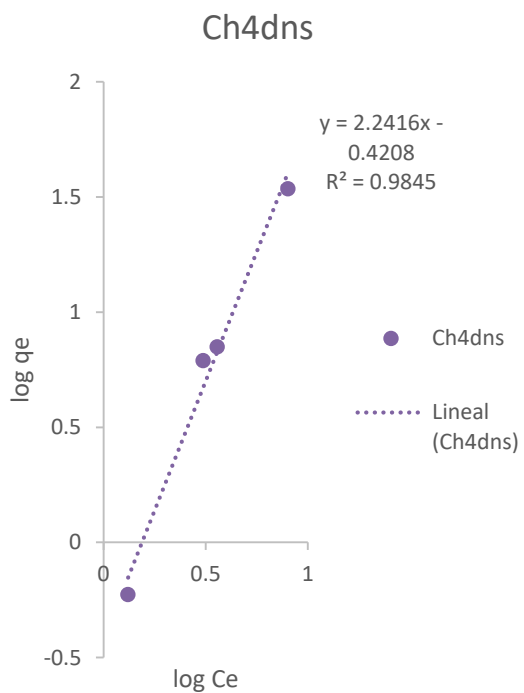
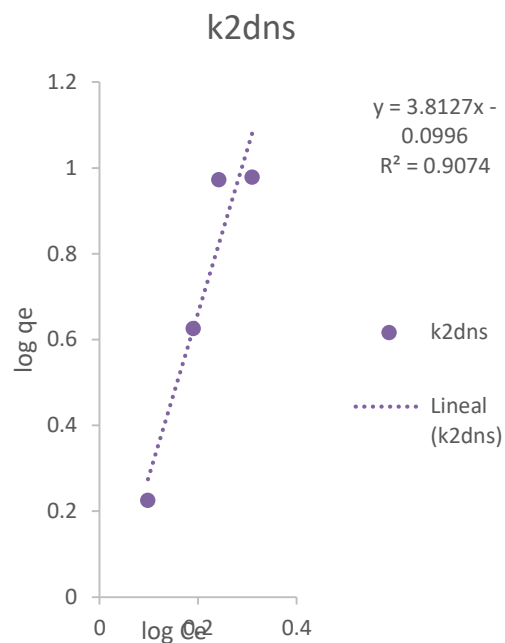
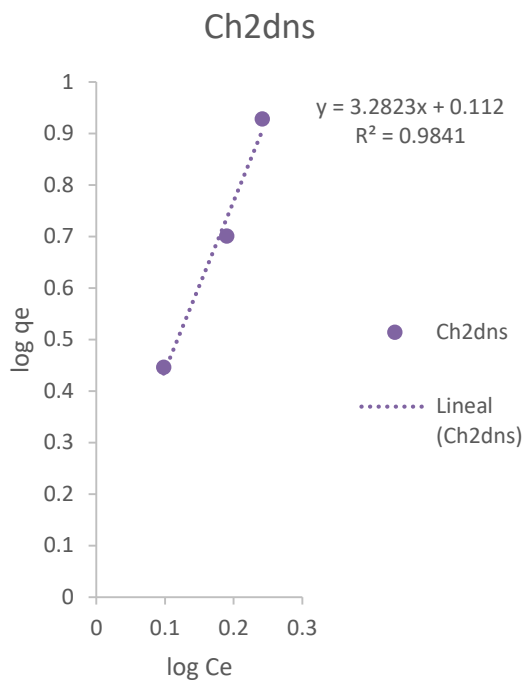


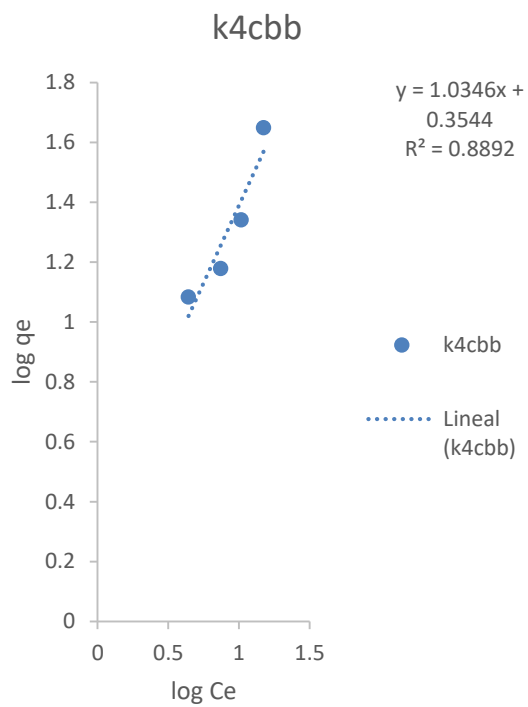
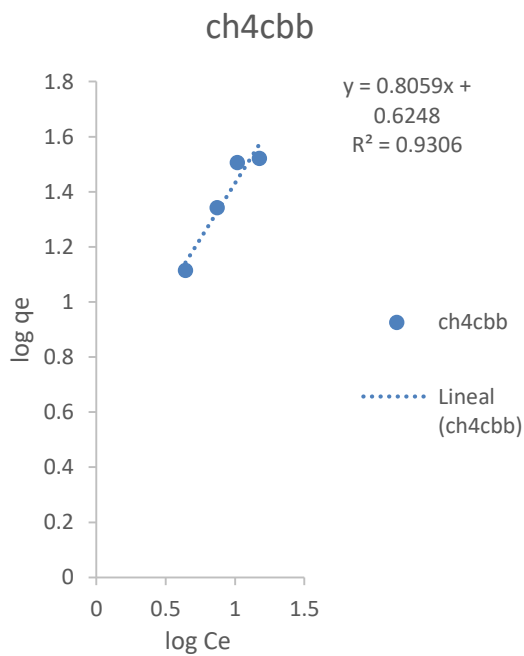
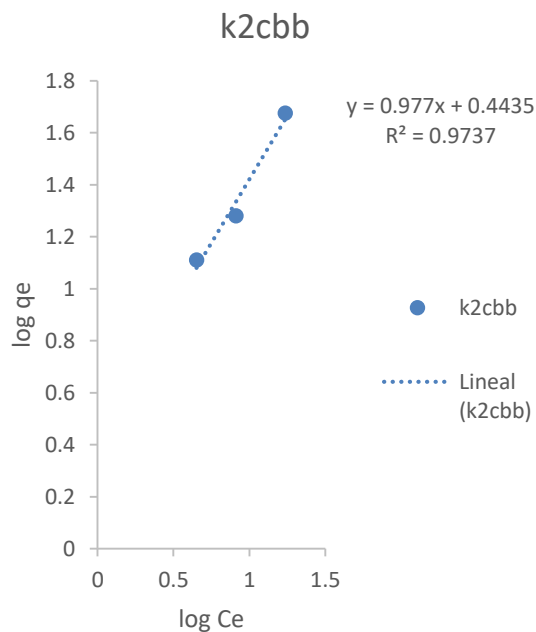
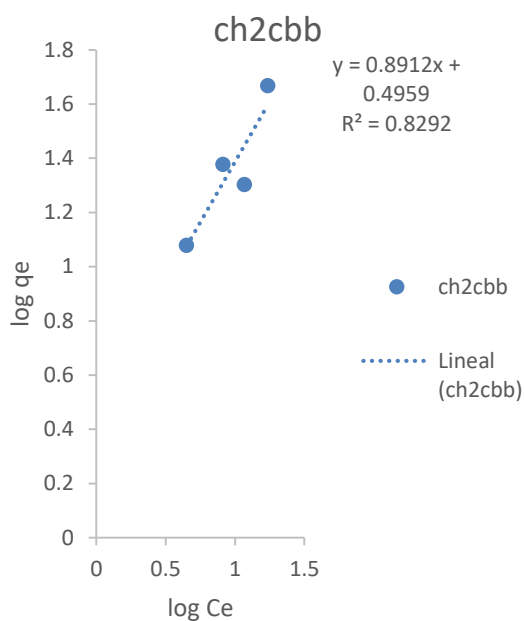
Anexo 2. Gráficas de 1/qe vs 1/Ce para determinar las constantes necesarias para los ajustes a isotermas de Langmuir y Freundlich.

Ch: Chapulín; K: Camarón; 2: pH 2.0; 4: pH 4.0; dns: Ácido dinitrosalisílico; abc: Azul brillante de Comassie.





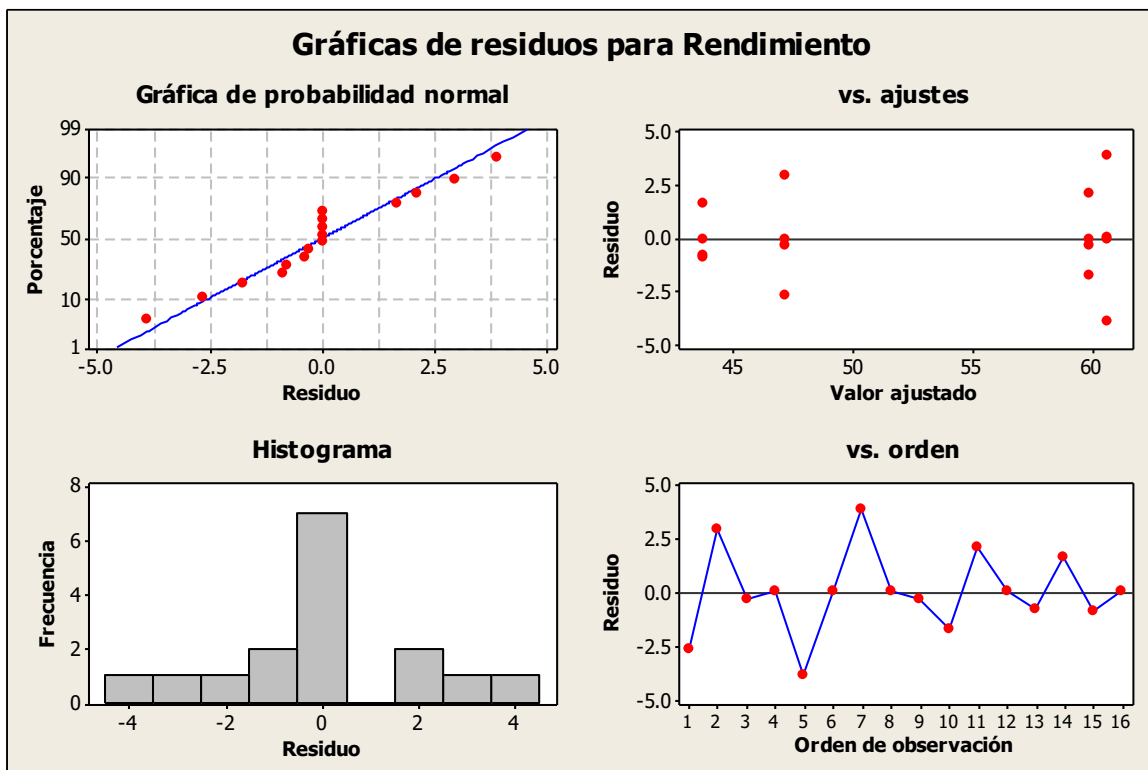
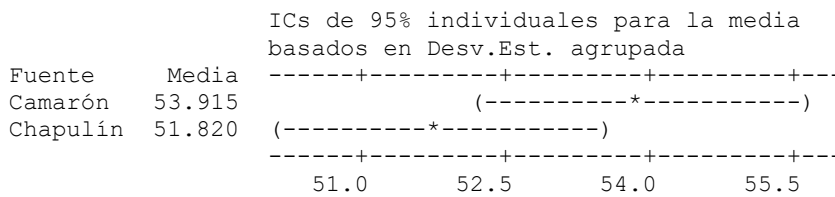




Anexo 3.- Análisis de varianza de dos factores para el rendimiento en la extracción de quitina con un α de 0.05

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Fuente	1	17.556	17.556	3.64	0.081
tratamiento	1	7.165	7.165	1.48	0.246
Interacción	1	876.357	876.357	181.61	0.000
Error	12	57.906	4.825		
Total	15	958.984			

S = 2.197 R-cuad. = 93.96% R-cuad.(ajustado) = 92.45%



Anexo 4.- Análisis de varianza y prueba de Tukey para la capacidad de Hinchamiento con un α de 0.05

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tiempo (min)	7	32122.40	32122.40	4588.91	437.55	0.000
Fuente	1	20.81	20.81	20.81	1.98	0.181
Replica	2	68.61	68.61	34.31	3.27	0.068
Tiempo (min)*Fuente	7	174.03	174.03	24.86	2.37	0.080
Tiempo (min)*replica	14	64.73	64.73	4.62	0.44	0.931
Fuente*replica	2	385.57	385.57	192.78	18.38	0.000
Error	14	146.83	146.83	10.49		
Total	47	32982.97				

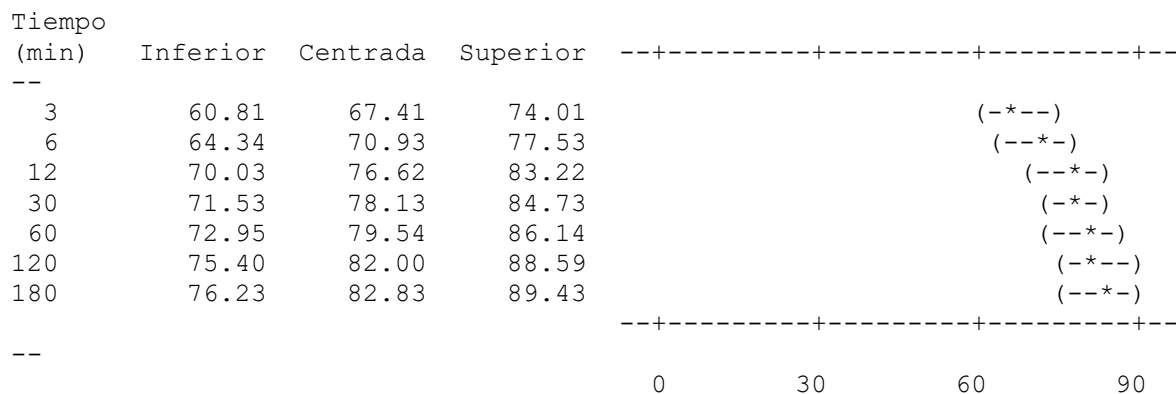
S = 3.23847 R-cuad. = 99.55% R-cuad.(ajustado) = 98.51%

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo (min)	N	Media	Agrupación
180	6	82.8287	A
120	6	81.9969	A
60	6	79.5435	A
30	6	78.1319	A
12	6	76.6249	A B
6	6	70.9349	B C
3	6	67.4086	C
0	6	-0.0000	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95.0%



Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

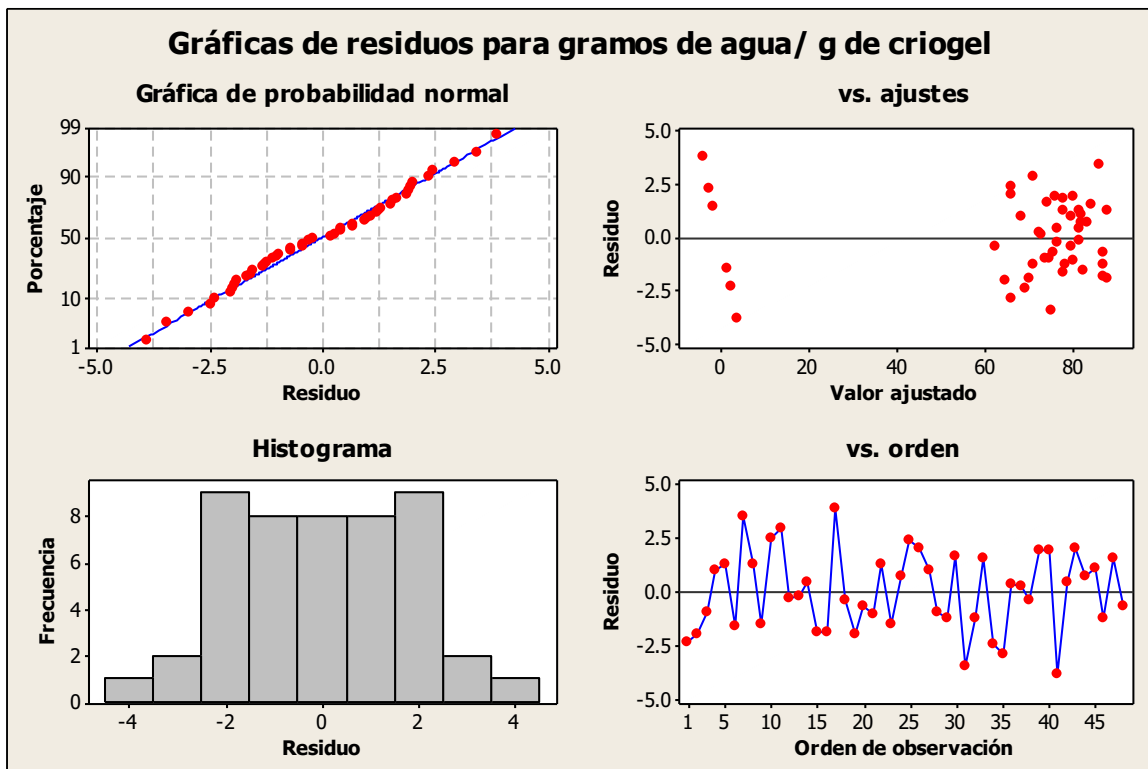
Fuente	N	Media	Agrupación
Camaron	24	67.8421	A
Chapulín	24	66.5252	A

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95.0%

Fuente	Inferior	Centrada	Superior	
Chapulín	-3.322	-1.317	0.6882	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----

 -2.4 -1.2 0.0



Anexo 5- Análisis de varianza de la capacidad de adsorción de los hidrogeles (chapulín y camarón) en un sistema por lote con un α de 0.05.

Modelo lineal general para DNS

Análisis de varianza para ppm, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Fuente	1	61.362	61.362	61.362	13.85	0.034
Concentración	3	948.818	948.818	316.273	71.39	0.003
ph	1	16.661	16.661	16.661	3.76	0.148
Fuente*ph	1	0.166	0.166	0.166	0.04	0.859
Fuente*Concentración	3	5.440	5.440	1.813	0.41	0.759
Concentración*ph	3	28.541	28.541	9.514	2.15	0.273
Error	3	13.290	13.290	4.430		
Total	15	1074.277				

S = 2.10477 R-cuad. = 98.76% R-cuad. (ajustado) = 93.81%

Modelo lineal general para ABC

Análisis de varianza para ppm₁, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Fuente	1	10.36	10.36	10.36	0.48	0.537
Concentración	3	653.24	653.24	217.75	10.16	0.044
pH	1	24.68	24.68	24.68	1.15	0.362
Fuente *Concentración	3	165.41	165.41	55.14	2.57	0.229
Fuente *pH	1	127.21	127.21	127.21	5.94	0.093
Concentración ₁ *pH	3	7.94	7.94	2.65	0.12	0.940
Error	3	64.30	64.30	21.43		
Total	15	1053.15				

S = 4.62951 R-cuad. = 93.89% R-cuad. (ajustado) = 69.47%

Modelo lineal general de todo el sistema por lote

Análisis de varianza para PPM ADS, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
COL	1	63.22	63.22	63.22	3.03	0.106
FUENTE	1	10.64	10.64	10.64	0.51	0.488
[]	3	1571.91	1571.91	523.97	25.08	0.000
pH SOL	1	0.39	0.39	0.39	0.02	0.893
COL*FUENTE	1	61.08	61.08	61.08	2.92	0.111
COL*[]	3	30.15	30.15	10.05	0.48	0.701
COL*pH SOL	1	40.95	40.95	40.95	1.96	0.185
FUEN*[]	3	61.70	61.70	20.57	0.98	0.430

FUEN*PH SOL	1	68.29	68.29	68.29	3.27	0.094
[]*PH SOL	3	10.71	10.71	3.57	0.17	0.914
Error	13	271.60	271.60	20.89		
Total	31	2190.65				

S = 4.57080 R-cuad. = 87.60% R-cuad. (ajustado) = 70.44%

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

COL	N	Media	Agrupación
DNS	16	12.281	A
ABC	16	9.470	A

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

FUEN	N	Media	Agrupación
Camarón	16	11.453	A
Chapulín	16	10.299	A

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

[]	N	Media	Agrupación
D	8	22.931	A
C	8	7.666	B
B	8	7.385	B
A	8	5.522	B

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

PH	SOL	N	Media	Agrupación
	2	16	10.987	A
	4	16	10.765	A

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

COL	[]	N	Media	Agrupación
DNS	D	4	25.614	A
ABC	D	4	20.248	A
DNS	C	4	8.154	B
DNS	B	4	7.825	B
DNS	A	4	7.532	B
ABC	C	4	7.177	B
ABC	B	4	6.945	B
ABC	A	4	3.512	B

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

COL	FUEN	N	Media	Agrupación
DNS	Camarón	8	14.240	A
DNS	Chapulín	8	10.323	A
ABC	Chapulín	8	10.275	A
ABC	Camarón	8	8.665	A

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

		PH			
COL	SOL	N	Media	Agrupación	
DNS	4	8	13.302	A	
DNS	2	8	11.261	A	
ABC	2	8	10.712	A	
ABC	4	8	8.228	A	

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

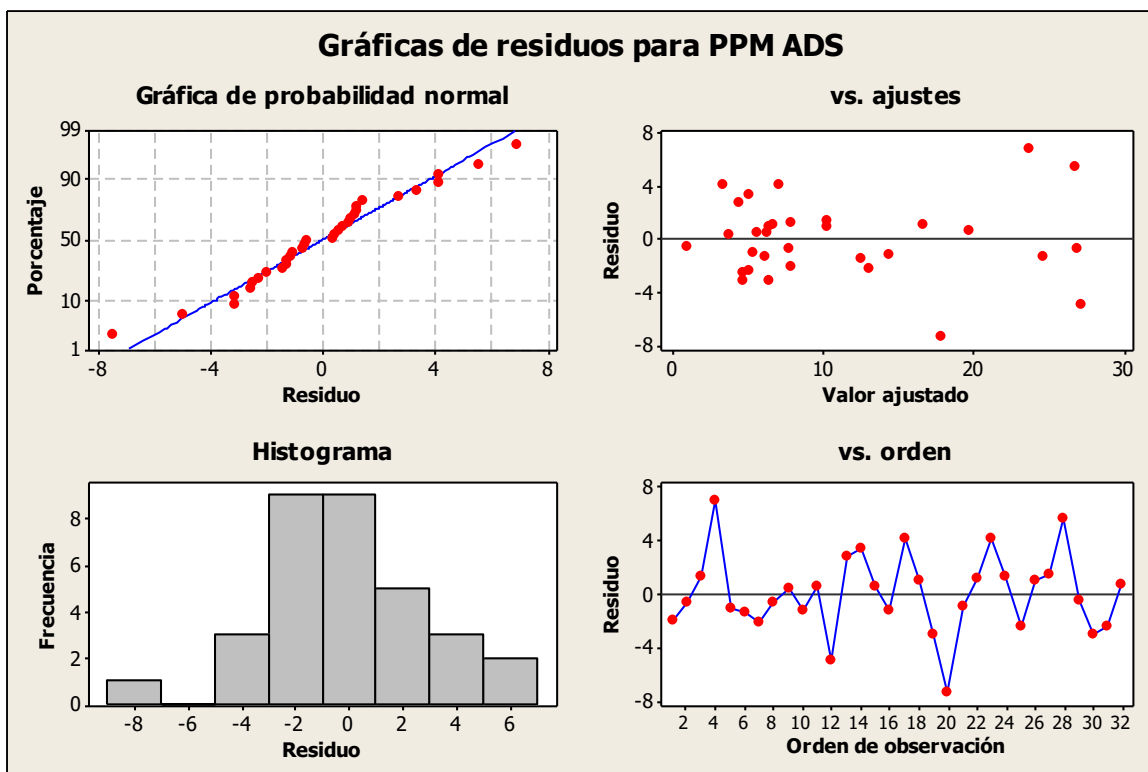
FUEN	[]	N	Media	Agrupación
Chapulín	D	4	24.591	A
Camarón	D	4	21.271	A
Camarón	C	4	8.567	B
Camarón	B	4	8.293	B
Camarón	A	4	7.678	B
Chapulín	C	4	6.764	B
Chapulín	B	4	6.476	B
Chapulín	A	4	3.365	B

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

		PH			
FUEN	SOL	N	Media	Agrupación	
Camarón	4	8	12.803	A	
Chapulín	2	8	11.871	A	
Camarón	2	8	10.103	A	
Chapulín	4	8	8.728	A	

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

	PH			
[]	SOL	N	Media	Agrupación
D	2	4	23.875	A
D	4	4	21.987	A
C	2	4	7.676	B
C	4	4	7.655	B
B	2	4	7.557	B
B	4	4	7.212	B
A	4	4	6.205	B
A	2	4	4.838	B



Anexo 6- Análisis de varianza de la capacidad de adsorción de los hidrogeles (chapulín y camarón) en un sistema de lecho fijo para ABC con un α de 0.05.

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Fuente CH	1	24.17	14.61	14.61	1.94	0.168
pH Ch	1	769.96	770.95	770.95	102.26	0.000
Fuente CH*pH Ch	1	132.04	132.04	132.04	17.51	0.000
Error	68	512.65	512.65	7.54		
Total	71	1438.82				

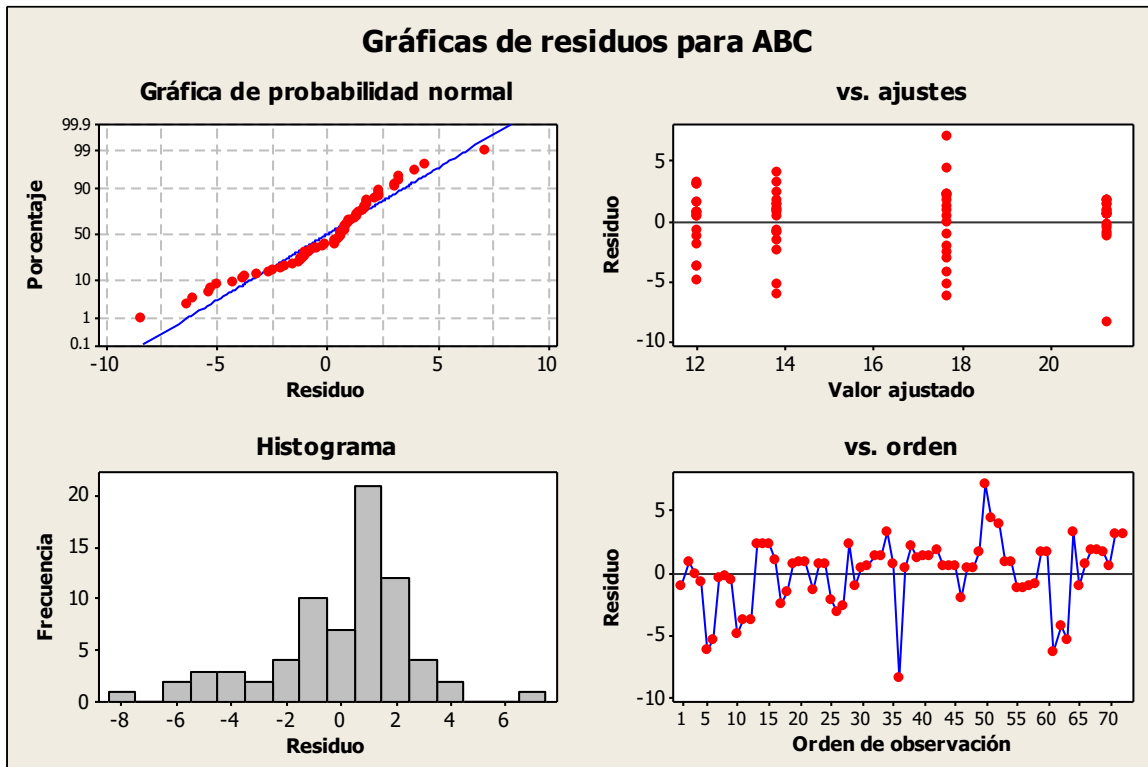
S = 2.74572 R-cuad. = 64.37% R-cuad.(ajustado) = 62.80%

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Fuente CH	N	Media	Agrupación
Chapulín	36	16.65	A
Camarón	36	15.75	A

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

pH Ch	N	Media	Agrupación
2	37	19.47	A
4	35	12.92	B



Anexo 7- Análisis de varianza de la capacidad de adsorción de los hidrogeles (chapulín y camarón) en un sistema de lecho fijo para DNS con un α de 0.05.

Análisis de varianza para ppm, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Fuente	1	11.58	9.43	9.43	0.80	0.374
pH	1	141.40	141.40	141.40	12.00	0.001
Error	69	813.15	813.15	11.78		
Total	71	966.13				

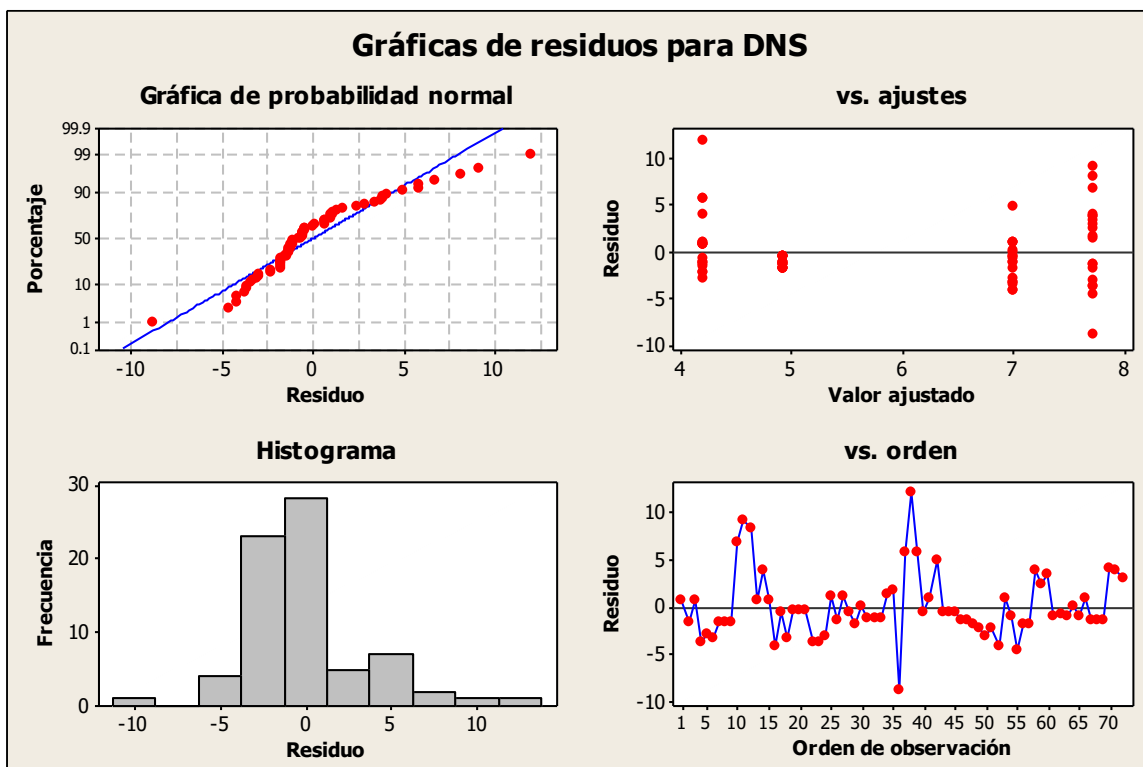
S = 3.43289 R-cuad. = 15.83% R-cuad.(ajustado) = 13.40%

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Fuente	N	Media	Agrupación
Chapulín	36	6.328	A
camarón	36	5.604	A

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

pH	N	Media	Agrupación
4	37	7.368	A
2	35	4.563	B



Anexo 8- Análisis de varianza de la dimensión del poro de hidrogeles (chapulín y camarón) con un α de 0.05.

Análisis de varianza para A (μm^2), utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Fuente	1	5053087	5053087	5053087	3.42	0.089
Estado	1	59698	59698	59698	0.04	0.844
Fuente*Estado	1	2165352	2165352	2165352	1.47	0.249
Error	12	17730330	17730330	1477528		
Total	15	25008467				

S = 1215.54 R-cuad. = 29.10% R-cuad. (ajustado) = 11.38%

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Fuente	N	Media	Agrupación
Camarón	8	8152	A
Chapulín	8	7028	A

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Estado	N	Media	Agrupación
Húmedo	8	7651	A
Seco	8	7529	A

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Fuente	Estado	N	Media	Agrupación
Camarón	seco	4	8459	A
Camarón	húmedo	4	7845	A
Chapulín	húmedo	4	7457	A
Chapulín	seco	4	6599	A

