

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Síntesis de nanopartículas de carboximetilquitosano y su
aplicación en tratamiento de aguas residuales.

Trabajo de graduación presentado por

Daniela Patricia Cuadra Granados

para optar al grado académico de Licenciada en Química

Guatemala

2017

Síntesis de nanopartículas de carboximetilquitosano
y su aplicación en tratamiento de aguas residuales.

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

Síntesis de nanopartículas de carboximetilquitosano
y su aplicación en tratamiento de aguas residuales.

Trabajo de graduación presentado por

Daniela Patricia Cuadra Granados

para optar al grado académico de Licenciada en Química

Guatemala


2017

Vo. Bo.


(f) 

Dra. Marlene Susana Arrechea Alvarado


Tribunal Examinador:

(f) 

Dra. Marlene Susana Arrechea Alvarado

(f) 

Lic. Ángel César Ramírez Sandoval

(f) 

Ing. Dyna Melgar

Fecha de aprobación: 1 de diciembre del 2017. ✓

Para ti papá, quien me cuida desde las estrellas

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la oportunidad de continuar, por ser mi fuerza, por sus bendiciones y amor.

A Susana Arrechea por ser mi ejemplo a seguir. Gracias por su amistad y entrega.

A Pamela Pennington, por la oportunidad de trabajar con su equipo de investigación.

A Ángel Ramírez, por su pasión a la química, su apoyo y entrega a los estudiantes.

A Dyna Melgar, por su colaboración y disposición durante la realización de la tesis.

A Fernando Langa por la oportunidad de hacer una estancia en los laboratorios de INAMOL, Toledo, España.

A Francisco Ortega, por su apoyo en la realización de los análisis FT – IR y TGA de las muestras de quitosano.

A Luis Velásquez, Carmela Barrientos y Juan Francisco Chajón por su colaboración y disposición en brindar ayuda para los análisis de difracción de rayos X.

A mi madre, gracias por la vida, el amor y esfuerzo para que yo alcanzara esta meta. Gracias por enseñarme que la satisfacción personal reside en la búsqueda de la honestidad y felicidad. Eres mi inspiración, te amo.

A mis abuelos, por sus cuidados, apoyo, amor incondicional, y por darme un segundo hogar.

A Benny De Ketele, por su amistad, honestidad, asesoría y consejos. Porque sin ti todo hubiese sido diferente, gracias por tu apoyo.

A mi hermana Andrea Cuadra, porque la ciencia es la pasión que compartimos.

A Manolo Ramirez, por tu apoyo incondicional y amor; a tu lado la vida me sienta mejor.

ÍNDICE

LISTADO DE FIGURAS.....	XV
LISTADO DE CUADROS.....	XVII
LISTADO DE ABREVIATURAS.....	XIX
RESUMEN.....	XXI
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	3
III. JUSTIFICACIÓN.....	5
IV. MARCO TEÓRICO.....	7
V. METODOLOGÍA.....	27
VI. RESULTADOS.....	39
VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	59
VIII. CONCLUSIONES.....	71
IX. RECOMENDACIONES.....	73
X. BIBLIOGRAFÍA.....	75
XI. ANEXOS.....	85
XII. GLOSARIO.....	97

LISTADO DE FIGURAS

Figura.	Página
1. Estructura química del CS.....	10
2. Estructura química de la QT.....	11
3. Procedimiento general para extraer QT y su tratamiento para obtener CS.....	11
4. Síntesis de CS a partir de QT.....	12
5. Carboximetilación de CS.....	16
6. Síntesis de N – CMC y N,O – CMC por alquilación directa.....	17
7. Formación de nanopartículas de quitosano por reticulación iónica con TPP.....	25
8. Formación de nanopartículas de CMC reticuladas con iones de Ca ⁺	26
9. Procedimiento para determinar metales pesados en agua residual.....	30
10. Procedimiento de extracción de QT y síntesis de QT.....	31
11. Procedimiento para la síntesis de CMC – Na.....	34
12. Procedimiento para sintetizar nanopartículas de CS.....	35
13. Procedimiento para sintetizar nanopartículas de CMC – Ca.....	35
14. Procedimiento de pruebas para remoción del pigmento FO – AX – N – 14.....	36
15. Curva de calibración para la determinación de cobre.....	40
16. Curva de calibración para la determinación de zinc.....	40
17. Espectro FTIR de quitina extraída de pupario de mosca hembra <i>Ceratitis capitata</i>	42
18. Espectro FTIR de quitina extraída de pupario de mosca macho <i>Ceratitis capitata</i>	43
19. Espectro FTIR de quitosano extraído de pupario de mosca hembra <i>Ceratitis capitata</i>	44
20. Espectro FTIR de quitosano extraído de pupario de mosca macho <i>Ceratitis capitata</i>	45
21. Espectro FTIR de quitosano purificado extraído de pupario de mosca macho <i>Ceratitis capitata</i>	46
22. Espectro FTIR de quitosano comercial extraído de camarón.....	47
23. Espectro FTIR de CMC – Na extraído de pupario de mosca hembra <i>Ceratitis capitata</i>	48
24. Espectro FTIR de CMC – Na extraído de pupario de mosca macho <i>Ceratitis capitata</i>	48
25. Difractograma de quitina extraída de pupario de mosca hembra <i>Ceratitis capitata</i>	49
26. Difractograma de quitina extraída de pupario de mosca macho <i>Ceratitis capitata</i>	50
27. Difractograma de quitosano extraído de pupario de mosca macho <i>Ceratitis capitata</i>	50
28. Difractograma de quitosano extraído de pupario de mosca hembra <i>Ceratitis capitata</i>	51
29. Difractograma de quitosano purificado extraído de pupario de mosca macho <i>Ceratitis capitata</i>	51
30. Curva TGA y DTG de quitosano extraído de mosca macho <i>Ceratitis capitata</i>	53
31. Curva TGA y DTG de quitosano extraído de mosca macho <i>Ceratitis capitata</i>	53

32. Comparación del porcentaje de remoción para el pigmento Fire Orange AX en muestras de agua AF.....	58
33. Comparación del porcentaje de remoción para el pigmento Fire Orange AX en muestras de agua DF.....	58
34. Proceso de producción de la mosca estéril <i>Ceratitis capitata</i>	85
35. Planta de tratamiento de agua residual.....	85
36. Agua residual después del tratamiento y proceso de filtración realizado en la planta.....	86
37. Área de marcaje, con pigmento fluorescente, del macho estéril.....	86
38. Muestra de agua residual AF y DF.....	87
39. Muestras de agua residual AF y DF después de la filtración realizada en laboratorio.....	87
40. Pupa de mosca <i>Ceratitis capitata</i> macho.....	88
41. Pupa de moscas <i>Ceratitis capitata</i> hembra.....	88
42. Harina de pupario de moscas <i>Ceratitis capitata</i> hembra luego de acondicionamiento con ácido benzoico 0.02 M.....	89
43. Harina de pupario de moscas <i>Ceratitis capitata</i> macho luego de acondicionamiento con ácido benzoico 0.02 M.....	89
44. Harina de pupario de moscas <i>Ceratitis capitata</i> hembra luego de desmineralización con HCl 1M.....	90
45. Harina de pupario de moscas <i>Ceratitis capitata</i> macho luego de desmineralización con HCl 1M.....	90
46. Sistema de reflujo empleado para extracción de quitina y síntesis de quitosano.....	91
47. Harina de pupario de moscas <i>Ceratitis capitata</i> hembra luego de desproteización con NaOH 1M.....	91
48. Harina de pupario de moscas <i>Ceratitis capitata</i> macho luego de desproteización con NaOH 1M.....	92
49. Quitina de pupario de moscas <i>Ceratitis capitata</i> hembra.....	92
50. Quitina de pupario de moscas <i>Ceratitis capitata</i> macho.....	93
51. Quitosano de pupario de moscas <i>Ceratitis capitata</i> hembra.....	93
52. Quitosano de pupario de moscas <i>Ceratitis capitata</i> macho.....	94
53. Carboximetilquitosano sódico de pupario de moscas <i>Ceratitis capitata</i> hembra.....	94
54. Carboximetilquitosano sódico de pupario de moscas <i>Ceratitis capitata</i> macho.....	95
55. Pruebas de remoción del pigmento Fire Orange de agua residual utilizando nanopartículas de quitosano.....	95
56. Pruebas de remoción del pigmento Fire Orange de agua residual utilizando nanopartículas de carboximetilquitosano de hembra.....	96
57. Pruebas de remoción del pigmento Fire Orange de agua residual utilizando nanopartículas de carboximetilquitosano de macho.....	96

LISTADO DE CUADROS

Cuadro.	Página.
1. Principales contaminantes del agua.....	7
2. Parámetros físicos y químicos del agua	8
3. Capacidad adsorbente de distintos derivados de quitosano para remover tintes.....	14
4. Capacidad quelante de derivados de quitosano.....	14
5. Tipos de nanomateriales aplicados al tratamiento de aguas residuales.....	24
6. Descripción de variables a determinar durante la experimentación.....	28
7. Concentración de nanopartículas para pruebas de remoción del pigmento Fire Orange en muestras de agua AF y DF.....	37
8. Resultados de análisis proximal de harina de pupario de moscas <i>Ceratitis capitata</i> realizado por parte de INLASA.....	39
9. Concentración de Zn y Cu en las muestras de agua residual AF y DF.....	41
10. GD y GA de quitinas y quitosanos extraídos de pupario de moscas <i>Ceratitis capitata</i> macho y hembra.....	54
11. Resultados pruebas de solubilidad de quitosano purificado.....	55
12. Absorbancia a 550 nm para muestra de agua AF y DF luego del tratamiento con nanopartículas de CS.....	55
13. Absorbancia a 550 nm para muestra de agua AF y DF luego del tratamiento con nanopartículas de CMC – Ca extraído de pupa de moscas hembra.....	56
14. Absorbancia a 550 nm para muestra de agua AF luego del tratamiento con nanopartículas de CMC – Ca extraído de pupa de moscas macho.....	56
15. Porcentaje de remoción del pigmento FO, AX-14-N de muestras de agua AF según la concentración de nanopartículas.....	57
16. Porcentaje de remoción del pigmento FO, AX-14-N de muestras de agua DF según la concentración de nanopartículas.....	57

LISTADO DE ABREVIATURAS

QT	Quitina.
CS	Quitosano.
CMC	Carboximetil quitosano.
CMC-Ca	Cacarboximetil quitosano reticulado con iones de calcio
FO AX-14-N	Pigmento Fire Orange código AX-14-N distribuido por DyGlo.
AF	Muestra de agua antes del proceso de filtración realizado por planta del Pino Moscamed.
DF	Muestra de agua después del proceso de filtración realizado por planta del Pino Moscamed.
FT – IR	Espectroscopía Infrarroja con transformada de Fourier.
GD	Grado de desacetilación.
GA	Grado de acetilación.
GS	Grado de sustitución.
GC	Grado de carboximetilación.
TGA	Análisis termogravimétrico.
DRX	Difracción de rayos X.

RESUMEN

El proceso de extracción de quitosano a partir de crustáceos ha sido ampliamente estudiado. Sin embargo, el proceso de extracción a partir de insectos no ha sido explorado al máximo. En este trabajo se presenta una adaptación del proceso tradicional de desproteínización, desmineralización, decoloración y desacetilación para extraer por primera vez quitosano a partir de pupario de moscas hembra y macho de la cepa de sexado genético de *Ceratitis capitata*. El objetivo es desarrollar un biopolímero a partir de los residuos de una planta de producción de mosca estéril en Guatemala, con la capacidad de adsorber el pigmento Fire Orange del agua residual. Los biopolímeros fueron caracterizados por medio de espectroscopía infrarroja (FT-IR) presentando un porcentaje de desacetilación para el quitosano de 87.65% en el quitosano extraído de mosca hembra. Asimismo, el análisis de difracción de rayos X (DRX) mostró que las quitinas presentan mayor estructura cristalina que los quitosanos y los biopolímeros extraídos del pupario de moscas macho presentan mayor naturaleza cristalina que los de hembra. Se realizó un análisis termogravimetría (TGA), para determinar la temperatura de descomposición quitosanos extraídos del pupario de moscas hembra y macho con valores de 368.75 °C y 373.39 °C respectivamente. Para aumentar la solubilidad en agua se sintetizaron nanopartículas de carboximetilquitosano reticuladas con iones de calcio y sus propiedades de remoción del pigmento fueron evaluadas con respecto a nanopartículas de quitosano, utilizando espectrofotometría ultravioleta visible (UV-Vis). Se determinó la efectividad de remoción del pigmento obteniendo un 67.4% para las nanopartículas de carboximetilquitosano (CMC – Ca), presentando una mayor remoción que las nanopartículas de quitosano con 43.20%.

I. INTRODUCCIÓN

La familia Tephritidae es una familia de dípteros branquíceros, mejor conocido como moscas de la fruta, y es considerada como una plaga para cultivos que disponen de frutos carnosos. Las moscas de la fruta los atacan y pudren; ya que la hembra coloca huevos bajo la piel de los frutos. Los huevos se transforman en larvas dentro del fruto, creciendo en su interior y dejando rastros de excremento. De esta forma, una plaga se genera en el cultivo. Entre los géneros de plagas con mayor importancia se encuentran *Anastrepha* y *Ceratitis*. El principal problema es que el cultivo suele ser receptivo al ataque de estas moscas, por lo que surge la necesidad de controlar la plaga (Robinson, 1986).

Un método genético efectivo para el control de plagas de la mosca de la fruta adulta es la técnica del insecto estéril. Para llevarla a cabo es necesario criar grandes cantidades de moscas, y esterilizar a los machos con bajas dosis de radiación. Los machos estériles son liberados a zonas infestadas por la plaga, al liberar una mayor cantidad de mosca macho estéril en relación a la cantidad de plaga de esta especie que existe en el campo se produce una reducción de la probabilidad de encuentros entre machos y hembras silvestres, dando como resultado de este cruce huevos infértiles, reduciendo de esta manera la población de la plaga en su siguiente generación.

El proceso de cría larval de colonias se encarga del desarrollo y magnificación de machos y hembras a lo largo de cuatro generaciones. Este es el proceso encargado de aumentar la cantidad de insectos, su función es proporcionar hembras y machos fértiles para la producción de huevo. En la colonia de reproductores se encuentran los adultos fértiles en jaulas que producen el huevo necesario para el mantenimiento de las colonias y su principal objetivo es el huevo al que se le aplica un proceso de tratamiento térmico en donde se eliminan las hembras aplicando temperaturas de 34⁰C, en la última fase del proceso, 5 días después de haber empacado la pupa dentro de torres de emergencia, la mosca alcanza su madurez sexual lo que indica que esta lista para ser liberada en el campo, colonia de reproductores y liberación de macho estéril son los procesos donde se produce la mayor cantidad de pupario, generando kilos de desechos de material biológico semanalmente (FAO, 1998).

El principal compuesto del exoesqueleto de las moscas es la quitina; la cual, al experimentar una desacetilación alcalina o al ser expuesta a ciertas condiciones de radiación, permite obtener quitosano. El quitosano [poli-β (1 → 4) -2-amino-2-desoxi-D-glucosa] es un biopolímero que posee un gran número de grupos funcionales, como los amino reactivos e hidroxilos primarios y

secundarios, que lo dotan de capacidades adsorbentes y quelantes. El quitosano es soluble sólo en condiciones ácidas ($\text{pH} \leq 6.5$). Se ha determinado que sus derivados, como los carboximetilados, son solubles en un amplio rango de pH (Anitha, *et al.*, 2009).

En este trabajo se presenta una adaptación del proceso tradicional de desproteinización, desmineralización, y desacetilación para extraer por primera vez quitosano a partir de pupario de moscas *Ceratitis capitata* macho y hembra y obtener un derivado, carboximetilquitosano. El objetivo es desarrollar un biopolímero a partir de los residuos de una planta de producción de mosca estéril en Guatemala, con la capacidad de adsorber el pigmento Fire Orange del agua residual.

II. OBJETIVOS

A. Objetivo general

Comparar la efectividad del uso de nanopartículas de quitosano (CS) y carboximetilquitosano (CMC – Ca) en el tratamiento de aguas residuales antes y después de la filtración (AF y DF) en una planta guatemalteca de producción de machos estériles de la cepa de sexado genético de *Ceratitis capitata*.

B. Objetivos específicos

Extraer quitina de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho, y realizar su conversión a quitosano caracterizándose por medio de análisis termogravimétrico (TGA), difracción de rayos X (DRX) y espectroscopía FT – IR; determinando el grado de acetilación y desacetilación.

Sintetizar carboximetilquitosano a partir del quitosano extraído del pupario de moscas *Ceratitis capitata* caracterizándose por espectroscopía FT – IR.

Sintetizar nanopartículas quitosano y carboximetilquitosano - Ca, y comparar su capacidad de remoción para el pigmento fluorescente *FO AX-14-N* presente en las muestras de agua residual antes y después de la filtración realizada en la planta de tratamiento actual.

III. JUSTIFICACIÓN

El quitosano es un biopolímero hidrosoluble que puede formar películas, fibras y nanopartículas en condiciones ácidas o débilmente ácidas. Es biocompatible, no tóxico, semipermeable, con propiedades quelantes, antimicrobianas, de adsorción, coagulante y floculante por su carácter catiónico (García, 2013). Por estos motivos resulta útil en la descontaminación de aguas residuales. Además, por la reactividad que le confieren sus grupos hidróxidos y amino, se logra la síntesis de derivados que amplían el campo de acción de este biopolímero. El carboximetilquitosano es el derivado de quitosano más importante, pues es soluble tanto en condiciones ácidas como alcalinas, siendo un buen candidato para el tratamiento de agua. Por su parte, las nanopartículas son útiles en la purificación del agua, debido a su reducido tamaño y al hecho que amplían el área superficial que les brinda mejor capacidad adsorbente (MI, 2007).

Una planta guatemalteca de producción de machos estériles de *Ceratitits capitata* genera semanalmente más de 70 kilos de desechos de pupario de machos estériles. Los machos estériles son teñidos con el pigmento fluorescente Fire Orange (*FO AX -14 - N*), el cual se utiliza para el proceso de marcaje y recaptura en el monitoreo de las liberaciones de moscas estériles en el campo. El agua residual de la planta actual es tratada con membranas para un proceso de filtración. La presencia de *FO AX-14-N* en el agua, no sólo es estéticamente indeseable, sino que también representa un impacto negativo en el medio ambiente.

Por esta razón se presentó una metodología para el tratamiento de residuos de pupario de moscas *Ceratitits capitata*, extrayendo quitina (QT) y realizando una conversión a quitosano (CS). Y se propuso una aplicación innovadora del quitosano (CS) para el tratamiento de agua residual. Para ello, se sintetizó nanopartículas de quitosano (CS) y carboximetilquitosano (CMC – Ca), compuesto soluble en agua en un amplio rango de pH; y se determinaron sus capacidades de adsorción para el pigmento fluorescente Fire Orange. Con este proyecto se generó un producto innovador con valor agregado para la planta y el manejo de sus residuos.

IV. MARCO TEÓRICO

A. Agua residual

La FAO define al agua residual como aquella que no posee un uso inmediato debido a su calidad o cantidad; resulta, principalmente, de procesos industriales y pueden ser suministro para otro usuario (FAO, 2014). El agua residual posee contaminantes que perjudican la calidad tanto en estética (color, olor, sabor) como en calidad química (microorganismos, compuestos orgánicos e inorgánicos disueltos) del agua. De modo que es perjudicial para el bienestar de quienes la consumen (Hendricks, 2006). Los principales contaminantes del agua se encuentran listados en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Principales contaminantes del agua.

Contaminante	Ejemplo
Materia orgánica disuelta o suspendida	Químicos orgánicos, ácidos fúlvicos, húmicos y/o compuestos sintéticos.
Sales iónicas disueltas	Sales de nitrato, carbonatos, sílice, y/o arsénico, metales pesados como plomo, mercurio, cromo.
Gases	Metano, dióxido de carbono, sulfuro de hidrógeno.
Material biológico	Microorganismos como bacterias, virus, hongos, algas.
Sólidos suspendidos	Materia coloidal, óxidos de metales insolubles o hidróxidos.

(Cartwright, 2009).

A finales del siglo XIX e inicios del siglo XX enfermedades como el cólera y la fiebre tifoidea incrementaron a nivel mundial debido al consumo de agua contaminada. Actualmente se ha reportado que al menos 1800 millones de personas alrededor del mundo dependen de fuentes de agua contaminadas por heces, lo cual incrementa las enfermedades mencionadas y otras como la diarrea, disentería, y poliomielitis (“OMS | Agua,” 2016). Por lo tanto, la OMS se ha propuesto mejorar el desarrollo de la salud pública y la calidad del agua a nivel mundial; asistiendo a los gobiernos de, principalmente, países subdesarrollados. En el 2004 inició con la prueba de distintos productos para el tratamiento de agua; y en el 2015 propuso un plan para asegurar el saneamiento del agua (“OMS | Agua,” 2016).

En Guatemala se cuenta con la Política Nacional del sector de agua potable y saneamiento, la cual contribuye a mejorar la calidad de vida, el bienestar individual y social de los guatemaltecos; puesto que vela porque todos tengan acceso a los servicios de agua potable. Sin embargo, el problema de contaminación de fuentes hídricas persiste, y el impacto de la deficiencia de agua potable y saneamiento afecta principalmente a la población económicamente vulnerable. Durante el 2010 se reportó que, entre las principales causas de mortalidad en Guatemala, se encuentran las enfermedades infecciosas y parásitas (66 por cada 100000); las cuales, como se ha expuesto, aumentan con el consumo de agua contaminada (Gobierno de Guatemala, n.d).

En consecuencia, surge la necesidad de establecer técnicas, económicamente accesibles, de análisis y tratamiento de agua que permitan la eliminación de impurezas y contaminantes dañinos para la salud. La calidad del agua se puede determinar según parámetros físicos y químicos, como se muestra en el Cuadro 2 (Orozco, 2005).

Cuadro 2. Parámetros físicos y químicos del agua.

Parámetro	Descripción
Temperatura	Afecta el estado de los demás parámetros del agua, desde la actividad biológica hasta las reacciones químicas y pH. A temperaturas mayores de 50°C o menores de 5°C la actividad microbiológica en el agua se inhibe.
Turbidez	La presencia de partículas coloidales interfiere en la dispersión o absorción de la luz, impidiendo que se transmita por difracción. Se puede medir en unidades de turbidez nefelométrica.
Sólidos suspendidos	Permite determinar la cantidad, en miligramo por litro, de sólidos que son retenidos en un filtro. Estos sólidos suelen ser impurezas de residuos orgánicos dañinos para la salud.
Sólidos disueltos.	Es una medida, en miligramo por litro de solución, que describe la cantidad de materia disuelta en el agua. Esta puede ser orgánica, inorgánica e iones en disolución. Este parámetro es determinado por evaporación del agua previamente filtrada.
pH	Mide la concentración de iones hidrógeno a una temperatura dada, el pH ideal en el agua es de 6.5 – 8.5.
Metales pesados	Metales como el mercurio, plomo, zinc, hierro, cromo, cadmio y el arsénico. Al estar presentes en el agua resultan tóxicos y altamente dañinos para los seres vivos.

(Orozco, 2005).

Los métodos de tratamiento se componen de procesos unitarios como filtración, coagulación, adsorción, entre otros. El conjunto de determinados y adecuados procesos unitarios, dan lugar a establecer un método de tratamiento de agua residual (Hendricks, 2006). Para esta investigación resulta pertinente describir el proceso unitario de adsorción, el cual generalmente surge por una serie de reacciones químicas que alteran y desestabilizan la superficie de partículas coloidales; a este proceso se le conoce como coagulación (Franco, 2014).

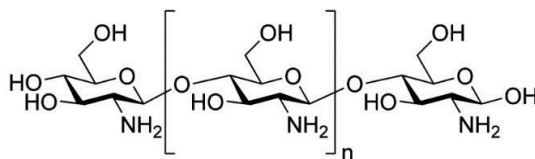
La coagulación, a través de la neutralización de cargas, reduce fuerzas de repulsión electrostática y permite la adhesión de partículas. Este proceso se puede dar al adicionar un polímero, que actúa como coagulante, a una muestra de agua con suspensión coloidales, como partículas de algún colorante. Las cadenas largas de los polímeros pueden adsorber partículas debido a que contienen variedad de grupos funcionales como aminas o hidroxilos. De modo que se forman uniones de partículas coloidales – polímero, las cuales generalmente precipitan y luego, al filtrar la muestra de agua, se logran retirar (Aguilar *et al.*, 2002).

Varios polímeros son empleados como coagulantes en el tratamiento de aguas, sin embargo; los efectos que tienen al incrementar la concentración de metales pesados en el agua, variar el pH del agua, y la toxicidad de residuos, promueven la búsqueda de nuevos agentes coagulantes. El CS, es un biopolímero de bajo costo, seguro, biodegradable y no produce contaminación secundaria. Este biopolímero ya ha sido utilizado como floculante y coagulante para remover partículas coloidales de colorantes, aceites, pesticidas, metales pesados, y se han reportado resultados donde incluso disminuye la turbidez del agua (Caldera *et al.*, 2013).

B. Quitosano

El CS es un polisacárido lineal semisintético de alto peso molecular compuesto por 2-amino-2-deoxi- β -D-glucosa y 2-acetamido-2-deoxi- β -D-glucosa en distribución Bernouliana (aleatoria); unidas por enlaces glucosídicos tipo β (1 \rightarrow 4) a lo largo de la cadena (Ríos *et.al*, 2006). En la Figura 1 se observa la estructura del CS.

Figura 1 Estructura química del CS, n representa las fracciones molares.



(Murray *et.al.*, 2013).

El CS es un biopolímero hidrosoluble que puede formar fibras, hidrogeles, películas y nanopartículas en condiciones ácidas o débilmente ácidas. Es biocompatible, no tóxico, semipermeable, con propiedades filmogénicas y antimicrobianas, que lo hace un material con una amplia gama de aplicaciones; desde la medicina, el tratamiento de aguas, hasta la industria alimentaria (Khan, *et.al*, 2000). Gracias a la cantidad de grupos funcionales presentes en su estructura, específicamente los grupos amida; presenta capacidad de ligar macromoléculas como lípidos y metales pesados como el cobre, zinc, plomo, mercurio, y hierro (Abram e Higuera, 2004).

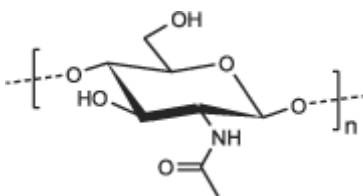
La presencia de grupos amida en la estructura molecular del CS, lo hace uno de los polisacáridos catiónicos naturales más abundantes, ya que se deriva de la QT mediante la desacetilación en condiciones alcalinas y a altas temperaturas. Posee un pKa alrededor de 6.5, lo cual limita su solubilidad y acción en medios alcalinos o neutros. Además, la presencia de grupos amida e hidroxilo, permiten modificar fácilmente la estructura química del CS (Krajawska, 2001). Las unidades de glucosamina establecen el GD de este compuesto, lo cual se relaciona con la cantidad de cargas positivas dada por los grupos amino dentro del polímero. El GD condiciona las propiedades fisicoquímicas y biológicas del CS: como el GS, solubilidad, viscosidad y peso molecular (No, 2002).

1. **Síntesis de quitosano a partir de quitina.** La quitina (QT) es el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza, se encuentra principalmente en el exoesqueleto de crustáceos e insectos, de modo que es un recurso renovable de fácil y abundante acceso. Se estima que anualmente se producen casi 100mil billones de toneladas de QT naturalmente. Siendo entonces una fuente de biomasa con gran disponibilidad y potencial para ser explotada (Tharanathan y Prashanth, 2007). La QT es rígida, no elástica y de apariencia blanca – amarillenta (Dutta, 2002).

Al igual que el CS, la QT poli - [β - (1 \rightarrow 4) - 2 - acetamida - 2 - desoxi - D - glucopiranososa], está conformada por monómeros de glucopiranosas unidas por enlaces

glucosídicos β (1 \rightarrow 4). La diferencia radica en el carbono 2, donde la QT posee un grupo acetoamida. En la Figura 2 se observa la estructura de la QT (Abram e Higer, 2004).

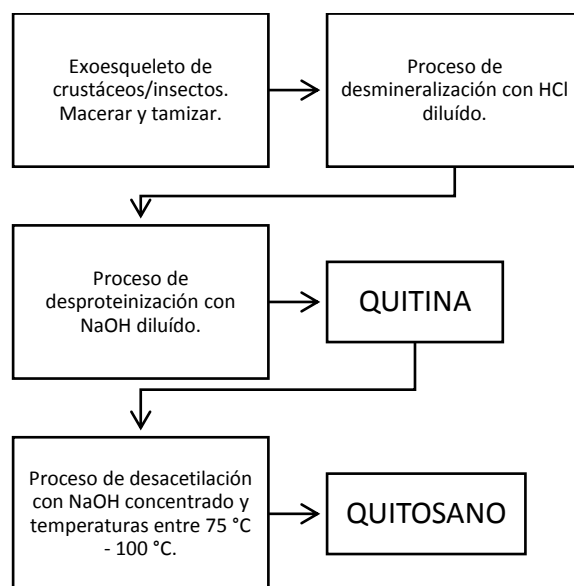
Figura 2 Estructura química de la QT.



(Muzzarelli, 2013).

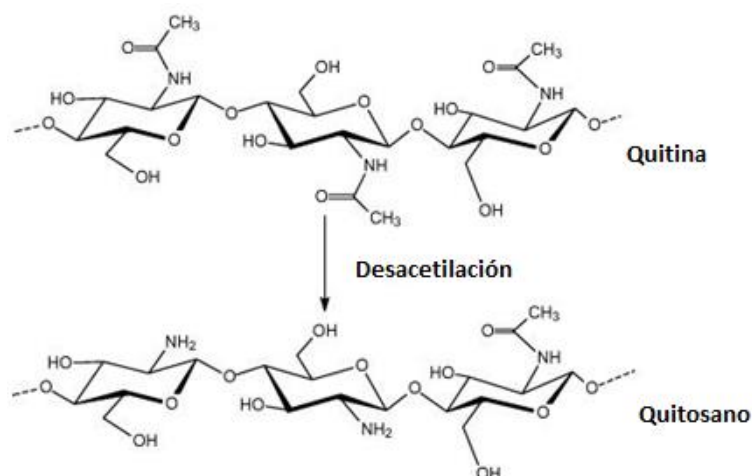
La QT puede ser aislada del exoesqueleto de los insectos y crustáceos al eliminar proteínas y minerales a través de medios básicos y ácidos (Goycoolea *et.al.*, 2004). En la Figura 3 se observa el proceso general de extracción de QT y síntesis de CS.

Figura 3 Procedimiento general para extraer QT y su tratamiento para obtener CS



Un proceso de N – desacetilación termoalcalina, generalmente con NaOH concentrado, es necesario para propiciar condiciones extremas de reacción. Esto debido a que la configuración trans de los grupos acetoamida, respecto del carbono 3 del anillo piranósico del monómero, le brinda poca reactividad a la QT (Goycoolea *et.al.*, 2004). La desacetilación difícilmente se alcanza al 100 % pero no es necesaria, ya que la solubilidad del CS en soluciones ácidas se logra únicamente con un 60 % de desacetilación (Tsaih y Chen, 1999). En la Figura 4 se puede observar la conversión de QT a CS.

Figura 4 Síntesis de CS a partir de QT.



(Shahadid, 1999).

La desacetilación para la extracción de QT posee dos inconvenientes al aplicarse a nivel industrial: primero, carece de sostenibilidad y segundo, daña el producto final, principalmente por el tratamiento a altas temperaturas. La adición de un compuesto de grado alimenticio a la suspensión del exoesqueleto, antes de la desproteización y desacetilación, permite un acondicionamiento del material y facilita el tratamiento adicional. En los experimentos realizados por Toan y colaboradores 2006 se demostró que, al emplear ácido benzoico, la cáscara de camarón se vuelve susceptible a la desproteización alcalina y a la desmineralización con HCl. Por lo tanto, la quitina extraída luego del acondicionamiento permite obtener quitosano de alta calidad (Toan *et.al*, 2006).

Una técnica útil para determinar si la extracción de QT y síntesis de CS fue exitosa es emplear la espectroscopia infrarroja para comparar espectros y determinar las bandas que desaparecen o aparecen luego de realizar la desacetilación. Las bandas generalmente son grandes debido a la naturaleza macromolecular de los biopolímeros y por los numerosos enlaces intermoleculares de hidrógeno. La principal diferencia entre los espectros IR es que, luego de la desacetilación, en el quitosano desaparece o disminuye la señal de grupos C = O, usualmente a 1627 – 1680 cm⁻¹. Y aumenta la señal de las bandas a 1558 – 1650 cm⁻¹, los cuales indican la vibración NH₂ (Rumengan *et.al*, 2014).

2. Aplicaciones del quitosano. Más del 50 % de las patentes autorizadas durante el 2006 son para el uso de CS en procesos de liberación de fármacos, purificación de agua, en ingeniería de tejidos y en la cicatrización de heridas. Hoy en día se considera como un compuesto indispensable en el mercado y en la innovación de materiales amigables con el medio ambiente. Además, ha tenido gran aplicación en la industria farmacéutica y alimenticia. También se han estudiado otras propiedades biológicas, por ejemplo: la mucoadhesividad, biocompatibilidad, baja toxicidad, inmonoestimulación, capacidad de absorción de macromoléculas biológicas, entre otras (Goycoolea, 2009).

Este biopolímero es de gran interés, ya que posee buenas capacidades de adsorción, fáciles rutas de degradación y bajo costo. Además, posee cationicidad en soluciones ácidas, por la presencia de muchos grupos amino, lo cual convierte al CS muy reactivo a cationes metálicos (Guibal, 2004). Por lo tanto, puede actuar como floculante y adsorbente de metales pesados e impurezas presentes en agua contaminada. Presenta afinidad por la mayoría de los grupos de tintes, como reactivos, directos y dispersos; presentando baja afinidad por tintes de estructura básica (Cestari, *et.al.*, 2004). Por su parte, las nanopartículas de CS se han utilizado para eliminar impurezas biológicas, orgánicas e inorgánicas del agua (Sun, *et.al.*, 2008).

a. Quitosano en tratamiento de aguas residuales. El principal problema de emplear CS con fines de purificación o tratamiento de aguas residuales es que únicamente presenta actividad a niveles de $\text{pH} \leq 6$, puesto que precipita en pH neutro y básico debido a un pKa intrínseco de 5.5; lo que constituye una problemática en términos de desarrollo de aplicaciones. Por lo tanto, se ha buscado modificar químicamente su estructura, alterando su solubilidad, propiedades biológicas, y funcionales; para aprovechar al máximo su aplicación en distintas áreas. Por ejemplo, para mejorar el rendimiento del quitosano como un adsorbente, se sintetizan derivados por medio de agentes de reticulación. Estos últimos no sólo estabilizan el quitosano en soluciones a distintos pH's, sino también mejoran sus propiedades mecánicas (Chiou *et al.*, 2004).

Recientemente se han desarrollado técnicas utilizando compuestos de quitosano para adsorber tintes, los cuales son una de las principales fuentes de contaminación severa del agua (Mouzdahir *et.al.*, 2010). Entre estos se encuentran los derivados que contienen nitrógeno, fósforo y sulfuros como heteroátomos y otros como el CMC (Ngah *et.al.*, 2011). En el siguiente cuadro se presentan los compuestos que recientemente se han utilizado para remover tintes del agua contaminada.

Cuadro 3. Capacidad adsorbente de distintos derivados de quitosano para remover tintes.

Compuesto	Tinte	Capacidad Adsorbente (mg/g)
Quitosano / Montmorillonita	Rojo Congo	53.42
Quitosano / Poliuretano	Violeta ácido	30.00
Quitosano / Arcilla activada	Azul de metilo	330.0
Quitosano / Bentonita	Tartrazina	294.1

(Nghah et.al, 2011).

Durante años, se han reportado maneras ineficientes de administrar los residuos de iones metálicos en aguas, los cuales representan un riesgo a largo plazo para el ecosistema y los seres vivos. Los metales pesados son tóxicos y causan daños irreparables. Los desechos por industrias incluyen cadmio, mercurio, cromo, cobre, níquel, zinc, entre otros (Nghah *et.al*, 2011). En el Cuadro 4 se resumen algunos compuestos de CS que han presentado capacidad quelante.

Cuadro 4. Capacidad quelante de derivados de quitosano.

Compuesto	Metal	Capacidad adsorbente (mg/g)
Quitosano magnético	Cr(VI)	69.40
Quitosano/ celulosa	Cu(II)	26.50
	Zn(II)	19.81
	Cr(VI)	13.05
	Ni(II)	13.21
	Pb(II)	26.31
Quitosano / Alúmina cerámica	As(III)	56.50
	As(V)	96.46
	Cu(II)	86.20
	Ni(II)	78.10
	Cr(VI)	153.8
Quitosano / arena	Cu(II)	47.85
	Pb(II)	12.32
Quitosano / sílica	Ni(II)	254.3
Quitosano / alginato de calcio	Cu(II)	67.66

(Nghah *et.al*, 2011).

La comparación entre los compuestos presentes en los Cuadros 3 y 4, no está completa y, además, es complicada de analizar debido a los distintos materiales utilizados durante la formación de los compuestos de quitosano. Las diferentes condiciones experimentales, la escasez de información y las incoherencias en la presentación de datos también han complicado las comparaciones (Nghah *et.al*, 2011).

Desde el año 2000 se reportaron investigaciones donde se buscaba aplicar el quitosano a aguas residuales complejas como las aguas de producción de petróleo, pero únicamente se logró demostrar que era un buen coagulante. Fue hasta el 2009 que se logró evaluar la eficiencia del quitosano como coagulante en aguas residuales de industrias petroleras. El quitosano se obtuvo del caparazón del camarón blanco, y se reportó su eficiencia para la remoción de turbidez 90.71 %, color 90.66 %, demanda química de oxígeno 50.68 % e hidrocarburos presentes 70.12 %. De esta manera se logró demostrar la aplicación de este biopolímero en procesos unitarios para purificar aguas complejas, lo cual resultaría ser una solución para la contaminación por desechos de industrias petroleras (Caldera *et.al*, 2009).

C. Carboximetilquitosano

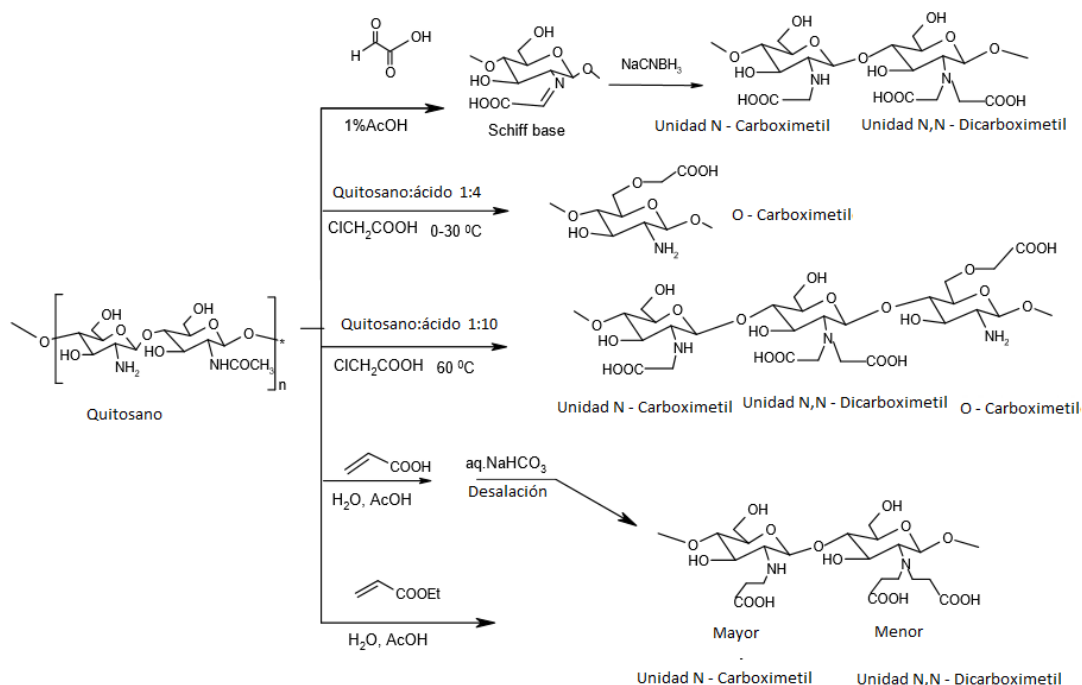
La carboximetilación de QTs y CSs brinda mayor solubilidad en agua a estos polisacáridos poco solubles, ampliando el rango de pH en el cual son solubles. Asimismo, al carboximetilar polisacáridos la estructura repetitiva posee mejor uniformidad y la rigidez de la cadena se aliviana. Los polímeros carboxilados poseen variedad de aplicaciones, debido a los distintos grupos funcionales presentes en la cadena. El CMC, es un derivado importante del CS debido a su solubilidad en un amplio rango de pH (Sun, *et.al*, 2008). Los derivados de CMC pueden dividirse entre *O* – CMC, *N,O* – CMC, y *N* – CMC; según sea la posición de sustitución del grupo carboximetilo. Cuando el CMC se deriva de una estructura *N* – acetil, se aumenta la actividad biológica, la solubilidad en agua y la biodegradabilidad (Mourya, *et.al.*, 2010).

La primera síntesis reportada de un derivado de CS carboximetilado fue realizada hace 80 años por Rigby en 1937. Él realizó la agitación de CS en ácido cloroacético por 12 horas a 60 °C, y obtuvo un derivado soluble en agua que no pudo caracterizar. Pero años después, investigadores como Muzarrelli, determinaron que la reacción realizada por Rigby dio lugar a una serie de sustituciones en la estructura química del CS. Principalmente en el grupo hidroxilo, y debido a que se incrementó la temperatura, también se dieron sustituciones en el grupo amino primario. Lo anterior permitió reportar los primeros resultados experimentales de la carboximetilación del CS (Muzarrelli, 1988).

En 1940 Thor logró preparar QT álcalil, lo cual dio lugar a nuevas rutas para carboximetilar la QT. Durante las siguientes décadas investigadores desarrollaron nuevas metodologías de carboximetilación. Inicialmente, todas estas fueron diseñadas para lograr preparar una QT soluble en agua que fuese útil en experimentos biológicos o bioquímicos. Durante más de 40 años no hubo información alguna sobre la interacción de los derivados de CMC y sus interacciones con iones metálicos, pero en 1988, Muzarrelli reportó capacidad quelante; y que esta depende del grado de sustitución, concentración de CMC y metales en la solución, y del pH de esta (Muzarrelli, 1988).

Hoy en día se ha reportado una variedad de metodologías para la síntesis de derivados carboximetilados del CS. Los principales son a través de bases de Schiff y del uso de un reductor como el NaCNBH_3 . Esta ruta de síntesis no es recomendada, a pesar de que se obtienen rendimientos por encima del 50 %, ya que este reductor resulta ser dañino para el experimentador y el medio ambiente. Como alternativa se puede emplear ácido cloroacético y llevar a cabo una reacción en calentamiento y agitación constante. En la Figura 5 se muestra un diagrama de las tres principales rutas de síntesis para obtener derivados carboximetilados del CS (Mourya, *et.al.*, 2010).

Figura 5 Carboximetilación de CS.

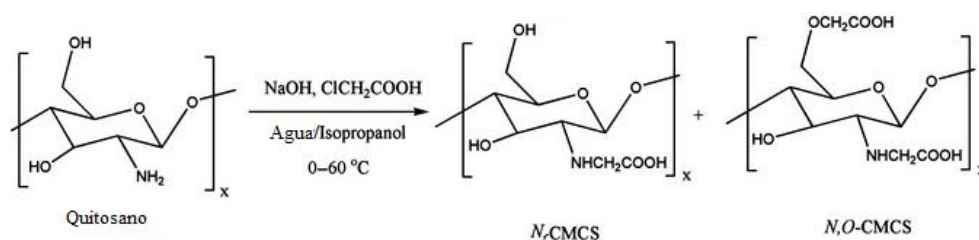


(Mourya *et.al.*, 2010).

1. **Síntesis por alquilación directa.** Se emplea ácido monohalocarboxílico o ácido monocloroacético para preparar N – carboxialquilo y O – carboxialquilo, derivados del CS a distintas condiciones. El FS depende de las condiciones de reacción. Para realizar la carboximetilación, el CS se debe disolver en agua/alcohol isopropílico; luego se activa al entrar en contacto con una solución alcalina de, por ejemplo, NaOH (Mourya, *et.al.*, 2010).

Durante la carboximetilación del CS con ácido monocloroacético, en medio alcalino de pH 8 – 8.5; únicamente los grupos amina serán activados y, por lo tanto, la N – sustitución será la única en suceder. Puede que el CS precipitado a este pH se vuelva a disolver en la solución a medida que la reacción avanza, pero al final todas las moléculas de CS estarán en la solución y serán mono o di – N – sustituidas (Rinaudo, *et.al.*, 1992). En la Figura 6 se observa la reacción de carboximetilación del CS a las condiciones anteriormente descritas.

Figura 6 Síntesis de N - CMC y N,O – CMC por alquilación directa.



(Kalliola *et al.*, 2016).

A concentraciones alcalinas elevadas (más del 25 % (v/v) de NaOH acuoso), la alquilación con ácido monocloroacético da lugar a la formación de derivados mixtos de N – y O – alquil – CS, con sustituciones en los grupos OH, carbono 6 y 3; algunas sustituciones también se dan en el grupo C2 – NH₂. La facilidad de sustitución, generalmente, es en el orden OH-6 > OH-3 > NH₂-2 (Mourya *et.al.*, 2010). Se ha reportado que el GS del grupo carboximetilo no tiene relación con el GD del CS, pero si depende de la concentración de NaOH empleada. Por lo tanto, concentración de NaOH determina el GS obtenido (An N.T *et.al.*, 2008).

Tokura y su equipo demostraron que el valor del GS del CMC aumenta a medida que aumenta la concentración de NaOH de 20 a 40 % (p/v) (Nishimura *et.al.*, 1984). Asimismo, Chen y colaboradores reportaron que el valor de GS aumentó de 0.15 - 0.63 a 0.43 – 0.68 cuando la concentración de NaOH iba de 40 a 50 % (p/v), empleando CS con un 75 y 90 % de GD respectivamente (Chen, *et.al.*, 2004). Al emplear NaOH al 50 % (p/v), se obtiene la concentración alcalina apropiada para el proceso de carboximetilación. A menores

concentraciones, la estructura del CS es cristalina rígida y, por ende, es más complicada de modificar y no se puede asegurar que el ácido monocloroacético ha penetrado las cadenas de polímero entrelazadas; de modo que resulta un GS menor. Al emplear una concentración alcalina superior al 60 % (p/v), la reacción lateral entre NaOH y el ácido cloroacético es más probable; como consecuencia, la concentración cloroacética disponible para la reacción disminuye y resulta en un efecto contraproducente para la síntesis de los derivados carboximetilados (Zhu, *et.al*, 2006).

Para realizar una síntesis de alto rendimiento, la proporción de agua / alcohol isopropílico es importante. La reacción del CS en isopropanol es de un bajo rendimiento, así como la reacción del CS en solamente agua. Esto se debe a que, el CMC que se va formando en agua, se hincha fácilmente y genera una consistencia gelatinosa que recubre el exterior de las partículas de CS; lo cual inhibe el curso de la reacción (Mourya *et.al.*, 2010). Por lo tanto, para obtener un buen rendimiento, las proporciones en volumen adecuadas de agua/isopropanol son 1:1 y 1:4. Si la proporción aumenta en el disolvente de reacción, disminuye la fracción de carboximetilación e incrementa la insolubilidad porque el pH aumenta. Se ha reportado que la relación entre la amina/ácido también afecta el valor de GS. Por lo tanto, se recomienda emplear una relación de hasta 1:4, y así, obtener rendimientos más altos (Chen *et.,al*, 2004).

En los experimentos de Kim y colaboradores, se sugiere una proporción amina:ácido más elevada (1:8), y obtener una reacción óptima de CS alcalinizado durante 2 horas y a un pH de 13.5. Esto lo lograron bajo condiciones de irradiación de microondas a 100 °C, con una potencia de 260 W y con un tiempo de reacción de 20 min. Obtuvieron un grado de sustitución de CMC superior a 0.85. Concluyeron que el aumento de la temperatura de reacción aumenta la fracción de carboximetilación (Kim, *et.,al*, 1998).

2. **Síntesis por alquilación reductora.** Esta síntesis se logra cuando los grupos $-NH_2$ de las unidades del CS, reaccionan con el grupo carbonil del ácido y posteriormente se hidrogena por la reacción con un agente reductor como el $NaBH_4$ o $NaCNBH_3$; logrando así, la síntesis de N – CMC. Empleando esta ruta de síntesis, el sustituyente carboximetil es clara y exclusivamente posicionado en el átomo de nitrógeno, por lo que hay una ausencia de la sustitución en el átomo de oxígeno. Sin embargo, debido a que el grupo aldehído del CS es altamente reactivo, se produce una di – sustitución inevitable en dos átomos de Nitrógeno. Esta disustitución es en menor proporción, sin embargo así es como resulta el N,N – diCMC. Por lo tanto, siempre que se obtenga N – CMC se debe considerar que una fracción de la molécula se encontrará disustituída (Muzzarelli *et., al*, 1982).

El primero en reportar esta ruta de síntesis fue Muzzarelli y colaboradores. En el experimento reportado se presentó una serie de productos de distintos tipos de CS que variaban según su peso molecular y GD. En cada prueba fueron variando las proporciones de CS y ácido glioxílico a modo de determinar las condiciones donde la síntesis presentara mayor rendimiento. Como agente reductor, emplearon borohidruro de sodio, dando como resultado un pH entre 4 y 5, no obtuvieron precipitación en la mezcla de reacción (Muzzarelli *et. al.*, 1982).

El producto de la reacción o solución viscosa se dializa contra agua y se liofiliza para obtener N-CMC. En este experimento se reportó un 70 % de unidades de N, N-dicarboximetil-CS. Por lo tanto, se recomienda emplear CS al 1 % en ácido acético al 0.9 % (p/v) con una relación molar de ácido y amina de 1:9. Estas condiciones permiten obtener la base de Schiff, que luego debe ser reducida al emplear una proporción de CS y borohidruro de sodio de 1:3 (Rinaudo *et.al.*, 1992). Esta ruta de síntesis, a pesar de reportar rendimientos altos, no es recomendada. Puesto que requiere reactivos caros y no es una técnica sencilla de realizar a escala. El proceso de alquilación directa es más barato, debido a que se emplean reactivos más económicos, de fácil acceso y sobre todo, reactivos menos peligrosos para el experimentador y menos dañinos para el medio ambiente en comparación a los agentes reductores empleados en la alquilación reductora.

3. Propiedades fisicoquímicas

a. Solubilidad. La desprotonación del grupo carboxilo en el CMC, lo hace soluble en medios neutros y ácidos. Cuando el GS para la carboximetilación es mayor al 60 %, el CMC es soluble en agua en un amplio rango de pH (Hjerde *et.al.*, 1997). Esta propiedad lo hace uno de los derivados más importantes del CS (Mourya *et.al.*, 2010). La insolubilidad del CMC en agua, a distintos pHs, varía con el valor de DS. Cuando los CMC se sintetizan bajo condiciones de temperatura elevadas (20 – 60 °C), la fracción de carboximetilación aumenta, pero la solubilidad a pH bajos disminuye y a pH casi neutro se vuelve insoluble. Por su parte, cuando los CMC se preparan a bajas temperaturas (0 – 10 °C) y en medios altamente básicos, la solubilidad en agua aumenta (Chen y Parck, 2003).

b. Adsorción y capacidad quelante. Adsorción es la capacidad que tienen algunos sólidos para atraer compuestos, líquidos o gaseosos (que están en suficiente contacto), a su superficie (Gehrke *et.al.*, 2015). Las capacidades de adsorción o retención del CMC depende de sus propiedades estructurales como: el sitio de sustitución, el peso molecular, el GS y GD. En la QT y CS el grupo 6 carboximetilo es un sitio activo que permite la adsorción. Las sustituciones en el grupo hidroxilo o en el átomo de nitrógeno, no son necesarias para presentar capacidades de adsorción, pero si contribuyen a un aumento en la misma.

Se ha demostrado que, a mayor peso molecular del CMC, mejor es la capacidad de adsorción. Los enlaces de hidrógeno intermoleculares en el CMC son indispensables para presentar capacidad de adsorción y retención de metales pesados y colorantes (Mourya *et.al.*, 2010).

Los agentes quelantes son sustancias que pueden formar complejos con iones metálicos polivalentes; de modo que los iones metálicos no pueden ejercer actividad química propia. Los agentes quelantes son necesarios para que, por ejemplo, seres vivos puedan desechar los quelatos solubles en agua (por vía renal) y evitar intoxicaciones por metales pesados (Gutiérrez y Salsamendi, 2001). Muzzarelli, en una serie de experimentos realizados en 1988, logró establecer que el CMC posee mejor capacidad quelante que el CS, primero porque el CMC es soluble en un amplio rango de pH; y segundo porque posee la habilidad de quelar iones de metales de transición. Estos quelatos precipitan y son fácilmente filtrados o retirados por centrifugación. Aún las soluciones diluidas hasta 0.1 mM pueden tratarse con CMC y se logra recolectar iones de metales de transición como supernadantes en la solución. Otra ventaja de emplear CMC es que los precipitados no son gelatinosos y precipitan rápidamente en comparación a los precipitados de CS (Muzarelli, 1988).

La capacidad quelante del CMC depende del pH de la solución. Muzarelli ha reportado que para los metales Co, Cu, Zn, Hg y Pb, la actividad quelante máxima se observa en un pH neutro (6 – 7). Mientras que para el Ni y Cd la capacidad máxima es alrededor de 7.5; y para el U es a 5.5. De igual manera, existe una relación entre la concentración y la actividad quelante. El CMC es capaz de captar Co, Ni, Cu, Cd, Pb y U cuando estos se encuentran en soluciones de 0.2 mM; se ha determinado que el Cu, Hg, Pb y U incluso a mayores concentraciones (0.3 – 0.5 mM) (Muzzarelli, 1988).

Estas propiedades físico – químicas del CMC lo hacen un compuesto con vastas aplicaciones. Las cuales van desde administración de fármacos, nanotecnología, fabricación de membranas de nanofiltración para el tratamiento de aguas, hasta el tratamiento de derrames de petróleo. Se han reportado estudios donde se emplea CMC y derivados de este como adsorbentes de tintes en soluciones acuosas (Mourya, *et.al.*, 2010). Sin embargo, no existen registros de su aplicación para remover el *Fire Orange*, AX-14-N; el cual es un polímero aminoplástico con varios tintes fluorescentes disueltos que forman un pigmento.

Estudios recientes muestran la síntesis de nanopartículas magnéticas preparadas con óxidos de hierro y N-bencil-O-CMC, un derivado de CS anfifílico, utilizado para adsorber tres colorantes catiónicos de solución acuosa (azul de metileno, violeta de cristal y verde de malaquita) (Debrassi *et al.*, 2012). También se han presenten nuevas membranas de

nanofiltración de alto flujo para la eliminación de colorantes que contienen nanopartículas de Fe_3O_4 recubiertas con CMC (Zinadini *et al.*, 2014). De igual manera se pueden mencionar la preparación fácil de nuevos compuestos de zirconio magnético con la ayuda de CMC y su eliminación eficaz de distintos colorantes (Wu, Shao, Ge, Bao, y Liu, 2016).

D. Nanotecnología

La nanotecnología estudia las distintas estructuras de la materia a niveles nano o atómicos. Las nanopartículas son partículas más pequeñas que 100nm. A pesar de que no se sabe con seguridad cuándo se empezó a sacar provecho de los materiales con estructuras de dimensiones nano; su existencia ha estado desde los inicios del planeta Tierra. Sistemas biológicos emplean estructuras nano para su desarrollo. Los estudios en nanociencia son relativamente nuevos, debido a limitaciones en la tecnología para desarrollar métodos eficientes que permitan la fabricación y caracterización de nanoestructuras (Poole y Owens, 2007).

Durante la década de los 80s se dio el auge en la nanociencia. Surgieron experimentos y nuevas técnicas para la síntesis de nanoestructuras. Sobre todo, se logró desarrollar técnicas como la microscopía de efecto túnel y de fuerza atómica; las cuales posibilitaron la capacidad de caracterizar, estudiar, y analizar a profundidad las nanoestructuras y sus propiedades. Posteriormente, en los 90s se desarrolló la síntesis de nanotubos de carbono, y las propiedades de superconductividad y ferromagnetismo que estos poseen. Lo anterior abrió paso al estudio de la conductividad eléctrica de las moléculas; asimismo inició el estudio en el autoensamblaje de las nanopartículas sobre superficies metálicas (Poole y Owens, 2007).

Fue hasta 1996 que la Fundación Nacional de Ciencia, con el propósito de estudiar nuevas propiedades y aplicaciones de las nanopartículas, realizó un estudio sobre las tendencias en el mundo acerca de la nanociencia. Dando lugar a que Estados Unidos, a través de una iniciativa nacional, promoviera la financiación de proyectos y estudios en nanotecnología. El interés surge al intentar describir las características químicas y físicas de las nanoestructuras; se reconoció que se necesitan varias disciplinas para desarrollar esta ciencia. La naturaleza interdisciplinaria, que incluye ingenierías como electrónica, mecatrónica, química, física, óptica, entre otras; dificulta que los investigadores de una sola área puedan comprender y estudiar el comportamiento y propiedades de las nanoestructuras (Poole y Owens, 2007).

La nanotecnología es capaz de revolucionar avances en sectores industriales, al desarrollar materiales ligeros, sensores de bajo costo, capacitores más rápidos, operadores de mayor memoria, filtros para limpiar aguas contaminadas, partículas selectivas para atacar células

cancerígenas, y aplicaciones farmacéuticas, entre otras. Por lo tanto, el interés tanto económico como social ha provocado un incremento en la inversión para el desarrollo de esta ciencia. Durante el 2004 industrias y gobiernos de la Unión Europea, Japón y Estados Unidos habrían invertido unos 10,000 millones de dólares en Investigación y Desarrollo de nanotecnología. En 2005 Estados Unidos, desde la Iniciativa Nacional de Nanotecnología (INN), invirtió alrededor de 2,000 millones de dólares en investigación. Lo anterior convierte a la nanotecnología en el área de investigación científica con mayor financiamiento público desde el lanzamiento del Apolo a la Luna (Shan y Wetter, 2006).

La nanotecnología es una rama de la ciencia de extensa aplicación y estudio, es demasiado interdisciplinaria y los avances, tanto en posibles aplicaciones como en nuevas estructuras, son rápidos. Según el grupo de trabajo sobre Ciencia, Tecnología e Innovación del Proyecto del Milenio de las Naciones Unidas, la nanotecnología es indispensable para solucionar problemas mundiales de sostenibilidad ambiental y desarrollo humano. Lo que permitiría alcanzar los Objetivos de Desarrollo del Milenio, sobre todo las actuales investigaciones que se están realizando acerca de la aplicación de nanopartículas en problemáticas de agua y energía (Shan y Wetter, 2006).

1. **Nanopartículas en tratamiento de agua.** La adsorción es uno de los métodos más utilizados para remover contaminantes de medios acuáticos. Esto debido al simple diseño, operación, relación costo efectividad y energía - eficiencia (Tan y Hameed, 2017). La eficacia de los adsorbentes convencionales suele estar limitada por el área superficial o los sitios activos, la falta de selectividad y la cinética de adsorción. Los adsorbentes nanométricos ofrecen una mejora significativa con su área superficial específica alta y los sitios de sorción asociados, la distancia de difusión intrapartícula corta y el tamaño de poro y la química de la superficie sintonizables (Xiaolei *et.al.*, 2013). Un adsorbente ideal para el tratamiento de aguas residuales debe cumplir los siguientes criterios (Gupta *et.al.*, 2016):

1. Debe ser ambientalmente benigno.
2. Debe demostrar una alta capacidad de sorción y alta selectividad, especialmente a los contaminantes que se producen en el agua a baja concentración.
3. Los contaminantes adsorbidos pueden eliminarse fácilmente de su superficie.
4. Deben ser reciclables

En los últimos 10 años, estudios han demostrado que los nanomateriales pueden satisfacer la mayoría de estos requisitos. Actualmente, existe un notable potencial para la remediación de problemas ambientales como resultado de desarrollos de nanociencia y nanotecnología. Se han

propuesto una variedad de nanomateriales eficientes, de bajo costo y respetuosos del medio ambiente con funciones únicas para aplicaciones potenciales en la detoxificación de efluentes industriales, aguas subterráneas, aguas superficiales y agua potable. Se demostró que los nanomateriales como nanotubos de carbono (CNT), grafeno, óxido férrico (Fe_3O_4), óxido de manganeso (MnO_2), óxido de titanio (TiO_2), óxido de magnesio (MgO) y óxido de zinc (ZnO) pueden jugar un papel importante en los procesos de tratamiento de aguas residuales (Sadegh *et.al.*, 2017).

A pesar de que los nanomateriales se pueden utilizar con éxito como adsorbentes eficientes, rentables y respetuosos con el medio ambiente para la eliminación de diversos sustratos tóxicos de aguas residuales tales como metales pesados, colorantes azoicos, etc (Sadegh *et.al.*, 2017). Aún existe mucho por investigar respecto a esos materiales ya que, debido a su tamaño requieren de consideraciones de riesgos especiales. Además, hasta la fecha, no se ha determinado con claridad el proceso cinético de adsorción al emplear nanomateriales. Debido a que los mecanismos de cinética de nanoadsorción, en donde el tamaño modifica las propiedades del material, implican suposiciones y cálculos matemáticos complejos (Sadegh *et.al.*, 2017).

Actualmente se realizan investigaciones sobre la implementación de nanopartículas como filtros de aguas contaminadas para capturar impurezas tanto químicas como biológicas. Ya se han desarrollado filtros de nanotubos de carbono, que son reutilizables, portátiles, de bajo costo, y que han eliminado bacterias como *Escherichia coli*. En Bangladesh se sintetizaron nanocristales de óxido de hierro para poder adsorber arsénico de fuentes de agua contaminadas. En Estados Unidos se han realizado investigaciones sobre nanopartículas de óxido de zinc para usarse con el mismo fin (Shan y Wetter, 2006).

Los nanomateriales están dotados de capacidades únicas, que dependen de su tamaño, como la alta reactividad, alta adsorción, amplia área superficial específica, entre otras. Estas capacidades les permiten ser la base para el desarrollo de tecnologías que mejoren los procesos de tratamientos de aguas residuales. En el Cuadro 5 se describen los nanomateriales más utilizados para el tratamiento de agua (Gehrke *et al.*, 2015).

Generalmente, las nanoestructuras poseen alta capacidad adsorbente debido al área superficial que poseen. Por lo tanto, las nanopartículas permiten realizar procesos más eficientes de eliminación de impurezas en el tratamiento de aguas residuales. Incluso representan un ahorro de materia, debido a su tamaño, no es necesario emplear grandes cantidades de reactivos para obtener resultados significativos (Gehrke *et al.*, 2015).

Cuadro 5. Tipos de nanomateriales aplicados al tratamiento de aguas residuales.

Nanomaterial	Propiedades	Aplicaciones
Nanoadsorbentes	Posee mayor área superficial específica, y mayores tasas de adsorción. La desventaja son los altos costos de producción.	Es útil para remover impurezas orgánicas del agua, metales pesados y bacterias. Pueden estar en solución.
Nanometales, y óxidos de nanometales	Resistentes a la abrasión, con capacidades magnéticas, son fotocatalíticos. Pero no son reutilizables.	Útiles para remover metales pesados, arsénico, y radionúclidos, empleados como filtros. Se presentan como polvos.
Membranas	Son confiables, más manejables y más frecuentados en procesos automatizados. Para su producción se necesita de grandes cantidades de energía.	Por su tamaño y fácil uso puede aplicarse a todos los procesos de tratamientos de agua residual.

(Gehrke, Geiser, y Somborn-Schulz, 2015)

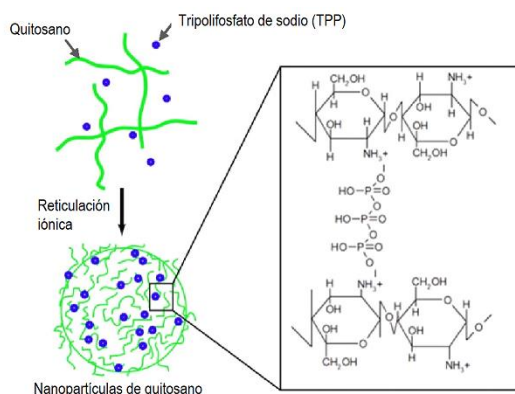
Sin embargo, la implementación de nanopartículas para la purificación y/o desinfección de aguas aún no ha sido del todo exitoso, ya que dependen del impacto y comportamiento que tengan en el medio acuoso. La mayoría de nanoestructuras que ingresan al agua no son degradados y deben ser filtrados, y pocos son reutilizables. Asimismo, se han realizado estudios de toxicidades al dispersar nanopartículas en cuerpos de agua para evaluar los riesgos para a la salud. Algunos resultados han permitido evaluar nuevas leyes o reglamentos que permitan administrar nanomateriales que no presenten toxicidad. Mientras que otros resultados reportan que por el tamaño reducido de las nanopartículas son altamente tóxicas para los seres vivos (Gehrke *et al.*, 2015).

2. **Nanopartículas de biopolímeros naturales.** Los biopolímeros naturales, como los polisacáridos, son estructuras químicas muy versátiles y con vastas aplicaciones debido a la cantidad de propiedades químicas y físicas que se derivan de sus estructuras químicas. Los más abundantes son la celulosa y la QT. Estas son de principal interés en la síntesis de materias primas en la industria de textiles, alimentos, y papel, entre otros. Los últimos años se han estudiado sus capacidades para formar hidrogeles, micro y nanopartículas, con propiedades de

adsorción y mucoadhesividad. Lo anterior es de mayor interés en aplicaciones médicas y farmacológicas (Goycoolea, 2009).

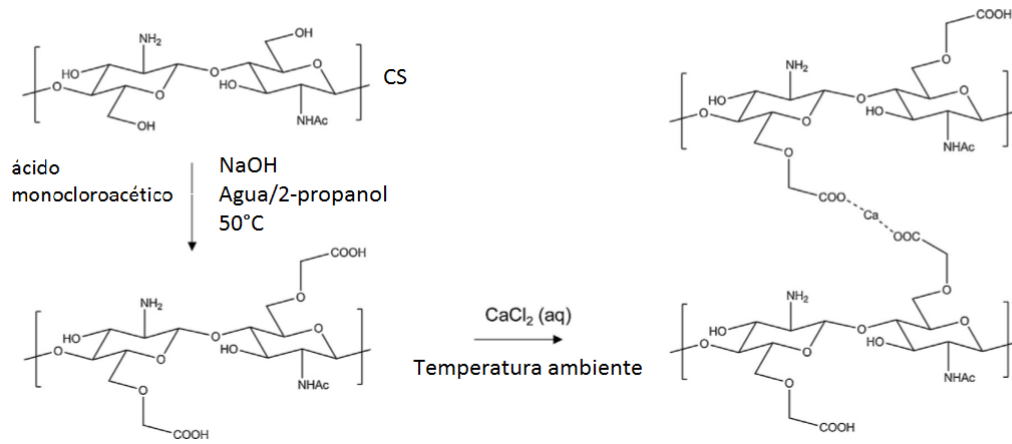
Las nanopartículas de quitosano se forman al gelificarse inotrópicamente con TPP. Al emplear este reactivo se evita el calentamiento o el uso de solventes. La formación de nanopartículas se da como resultado de la interacción entre los productos de disociación del TPP y los grupos de amina primaria presentes en el CS, en la Figura 7 se observa una representación de este proceso. Es válido mencionar que el tamaño del producto dependerá del pH, grado de acetilación, y el peso molecular de este (Goycoolea, 2009). Estas nanopartículas poseen variedad de aplicaciones en biomateriales. Y existe el interés de aplicarlas a problemas ambientales, puesto que son biocompatibles. La desventaja, como ya se ha mencionado, es que únicamente son solubles a pH ácidos por la protonación del grupo amino en el CS, la cual aumenta al tratarse con TPP (Kalliola *et al.*, 2016).

Figura 7 Formación de nanopartículas de quitosano por reticulación iónica con TPP.



(Imagen propia)

Para evitar la agregación de las nanopartículas de CS en medio neutro y básico, lo cual limita sus aplicaciones en el agua; es necesario modificar su estructura química, de modo que las nanopartículas de CMC – Ca parecen ser una opción para tratar el agua contaminada por impurezas. Su efectividad depende del peso molecular y grado de sustitución (Shi, Du, Yang, Zhang, y Sun, 2006). En la Figura 8 se muestra el proceso de formación de nanopartículas de CMC reticuladas con iones de Ca^{2+} .

Figura 8 Formación de nanopartículas de CMC reticuladas con iones de Ca^{2+} .

(Shi, Du, Yang, Zhang, y Sun, 2006).

V. METODOLOGÍA

A. Enfoque de la investigación

El presente trabajo de investigación posee un enfoque cuantitativo.

B. Tipo de investigación

Por la naturaleza de los resultados a reportar, la investigación es de tipo correlacional.

C. Diseño de investigación.

El diseño de la investigación fue experimental, poseyó un grupo control (nanopartículas de CS), y existió manipulación de variables, pero no hubo variabilidad en los grupos a analizar.

D. Contexto de la investigación, tiempo y lugar.

La investigación se aplicó al tratamiento de aguas residuales en la industria de producción de moscas estériles de la fruta adultas, específicamente en el área de producción de *Ceratitis capitata*. Se llevó a cabo en la planta de producción ubicada en Barberena, Santa Rosa, Guatemala y en la Universidad del Valle de Guatemala. La duración fue de 10 meses iniciando en enero del año 2017 y finalizando en octubre del mismo año.

E. Recursos humanos

En recursos humanos se tuvo la asesoría de Marlene Susana Arrechea, Phd y Pamela Pennington, Phd. Asimismo, se tuvo la colaboración de la Ing. Dyna Melgar, quien labora en la planta de producción de moscas estériles, con Fernando Langa, Phd quien labora en la Universidad de Castilla La Mancha, Toledo, España. Asimismo, se contó con el apoyo de Licda. Carmela Barrientos y el Lic. Luis Velásquez, quienes laboran en *Cementos Progreso*.

F. Toma de muestra.

Las muestras de agua residual fueron tomadas, una única vez, por personal de la planta de producción de moscas estériles con acompañamiento del equipo de trabajo de la Universidad del Valle de Guatemala. Por este motivo se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia.

G. Hipótesis

Las nanopartículas de CMC – Ca presentan mayor porcentaje de remoción para el pigmento fluorescente *FO*, AX-14-N, presente en el agua residual de una planta de producción de moscas estériles *Ceratitis capitata*, en comparación de las nanopartículas de CS.

H. Variables

Cuadro 6. Descripción de variables a determinar durante la experimentación

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Naturaleza	Relación	Nivel de medición
Concentración de nanopartículas de CMC – Ca y CS.	Cantidad de nanopartículas de CMC – Ca y CS, en muestras de AF y DF, empleada para el análisis del porcentaje de remoción óptimo.	Gramos de nanopartículas de CMC – Ca y CS determinados a través de balanza analítica.	Cuantitativa continua	Independiente	Razón
Absorbancia de muestras de agua AF y DF	Análisis de absorción atómica UV – Vis a 550nm para muestras de agua AF y DF, antes y después de ser tratadas con nanopartículas	Absorbancia determinada empleando espectrofotómetro UV – Vis Agilent modelo 8453E	Cuantitativa continua	Dependiente	Razón

I. Viabilidad

En cuanto a recursos financieros, la planta de producción de moscas estériles se hizo cargo de los reactivos y materiales varios; mientras que la Universidad del Valle de Guatemala proporcionó instalaciones, cristalería y equipos. Para la caracterización se utilizaron instalaciones de la Universidad de Castilla La Mancha, para utilizar equipos FT – IR, y TGA. Para llevar a cabo el experimento se tuvo un tiempo de 7 meses en el transcurso del año 2017 iniciando en abril y finalizando en octubre; esto incluye la extracción de quitina, conversión a quitosano, síntesis de CMC, de nanopartículas, caracterización de las síntesis y el análisis de aguas residuales.

J. Procedimiento

Para extraer quitina (QT), la planta de producción y esterilización de moscas *Ceratitis capitata* brindó 2 kilos de pupario de moscas macho y hembra, en forma de harina y tamizado por tamiz No. 100. Además, proveyó las dos muestras de agua 1 litro de agua antes de la filtración (AF) que se realiza en la planta de tratamiento actual y 1 litro de agua después de dicha filtración (DF). Todas las filtraciones realizadas en el laboratorio fueron al vacío empleando papel filtro Whatman grado 597 (4 – 7 μm). Cada paso para la síntesis de los biopolímeros y nanopartículas se realizó en duplicado, pues se trabajó tanto con muestras pupario de moscas hembra como de macho.

1. Análisis proximal de harina de pupario de moscas *Ceratitis capitata*. Con el propósito de determinar los componentes más abundantes en las muestras de harina de pupario de moscas hembra y macho; estas se sometieron a un análisis proximal realizado por parte de INLASA. Se determinó la presencia de calorías, carbohidratos, cenizas, grasas, humedad y proteínas.

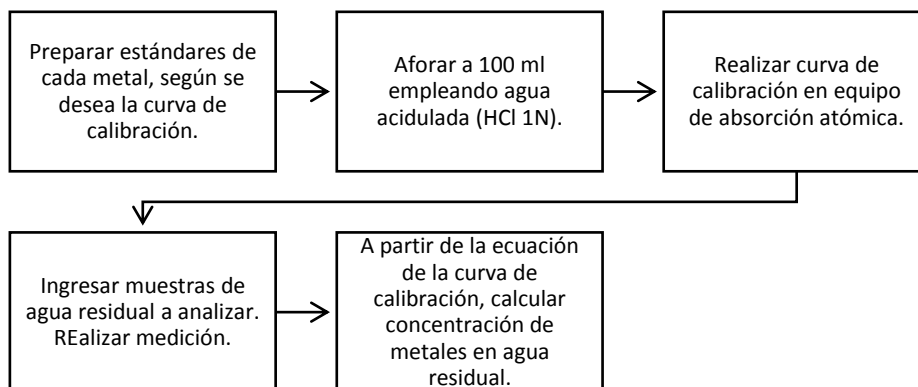
2. Análisis de agua residual

a. Preparación de muestra. Las muestras de agua AF y DF, se almacenaron en dos recipientes de polietileno y se conservaron a temperatura ambiente. Una vez en el laboratorio, se realizó una filtración al vacío para remover impurezas coloidales, o residuos de compuestos orgánicos desconocidos.

b. Concentración de metales en muestras de agua residual. Para ambas muestras de agua se evaluó la presencia de zinc y cobre por espectroscopia de absorción atómica,

empleando el equipo Perkin Elmer PinAAcle 900F disponible en la Universidad del Valle de Guatemala, según lo indicado en la Figura 9.

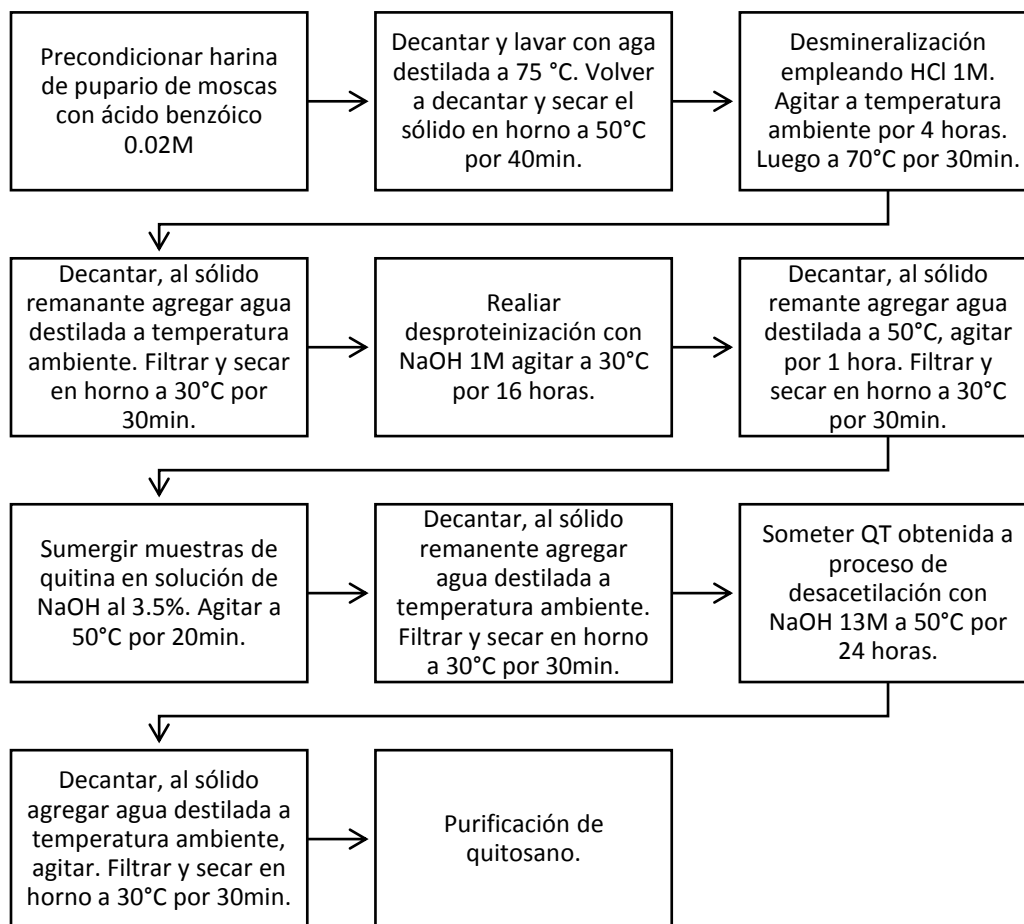
Figura 9 Procedimiento para determinar metales pesados en agua residual



Se obtuvieron las curvas de calibración con 4 puntos para cada metal. Para el zinc se prepararon estándares de 0.6, 1, y 2 ppm; mientras que para el cobre se prepararon estándares a 0.5, 1.5, y 2.5 ppm. Dichos estándares se obtuvieron a partir de soluciones madre de 100 ppm para cada metal. Es válido mencionar que cada solución se aforó en balones de 100ml empleando solución de HCl 1N.

3. Extracción de quitina de pupario de moscas. Se siguió el proceso que se observa en la Figura 10.

Figura 10 Procedimiento extracción de QT y síntesis de CS



- a. Precondicionamiento. Se siguió el procedimiento descrito por Toan y colaboradores, 2006. Se pesaron 5 g de harina, y se colocaron en un beaker de 250 ml para luego agregar 150 ml de una solución de ácido benzoico 0.02 M y se agitó por 5 horas a temperatura ambiente. Luego se dejó en reposo y se decantó. Al sólido remanente se le agregó agua destilada a 75 °C y se agitó por 20 min. Luego se realizó una filtración al vacío y los sólidos se colocaron en vidrios de reloj, para secarse a temperatura ambiente por 8 horas en desecadora. Luego se procedió con la extracción de quitina (QT) siguiendo el proceso descrito por Toan y colaboradores, 2006; con las siguientes modificaciones.

b. **Desmineralización.** Las muestras de harina, previamente tratadas con ácido benzoico y secas, se agregaron a balones de reflujo de 250 ml y se añadió 150 ml de HCl 1 M. Se armaron los sistemas de reflujo, se colocaron en un baño de agua a 35 °C, y con agitadores magnéticos se agitaron por 5 horas. Luego se agregó agua destilada a 50 °C y se agitó por 1 hora. Seguidamente se realizó una filtración y, por último, se colocaron en una desecadora por 8 h.

c. **Desproteínización.** Las muestras de harina, previamente tratadas con HCl y secas, se colocaron en balones de reflujo de 250 ml y se añadió 150 ml de una solución de NaOH 1 M. Se armaron los sistemas de reflujo, se colocaron en un baño de agua y con agitadores magnéticos se mantuvieron en agitación constante a una temperatura de 35 °C por 16 horas. Posteriormente, se dejó reposar y se realizó una decantación. Luego se agregó agua destilada a 50 °C y se agitó por 1 hora. Seguidamente se realizó una filtración y, por último, se colocaron en una desecadora por 8 h.

d. **Purificación.** Se sumergieron las muestras en una solución de hidróxido de sodio al 3.5% (p/v), en una relación sólido:líquido 1:5, a una temperatura de 50 °C por 20 min. Seguidamente, las muestras se filtraron y lavaron empleando agua destilada, y se colocaron en un horno a 40 °C por 35 min.

4. **Síntesis de quitosano.** Se siguió el proceso de desacetilación descrito por Toan y colaboradores, 2006; con las siguientes modificaciones.

a. **Desacetilación.** Se pesaron las quitinas (QT) obtenidas, se colocaron en un balón de reflujo de 250 ml y se agregó 130 ml de una solución de NaOH 13 M. Se armaron los sistemas de reflujo, se colocaron en un baño de agua y, con un agitador magnético, se agitaron las mezclas por 20 horas a 50 °C. Posteriormente se realizó una filtración lavando con agua destilada y los residuos se colocarán en una desecadora por 8 horas.

b. **Purificación.** Se realizó el procedimiento descrito por Nasti y colaboradores. Se suspendió la muestra de quitosano en una solución de ácido acético al 2.5 % (v/v). La mezcla se dejó en agitación por 32 horas a temperatura ambiente para asegurar la completa disolución del quitosano. Luego, la mezcla se calentó a 75 °C durante 40min para desnaturalizar y precipitar proteínas. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a 4000 rpm durante 20 min. Se recolectó el líquido en un beaker y este se llevó a pH 9 – 10 para precipitar el quitosano. Finalmente, la solución básica se centrifugó nuevamente a 4000 rpm durante 30 min para

precipitar el quitosano. Este se recolectó y secó en un horno a 75 °C por 3 horas. Es válido mencionar que luego de 5 días de almacenamiento a temperatura ambiente, el quitosano formó un gel.

c. Pruebas de solubilidad. Se estudió la solubilidad del quitosano según el pH de distintas soluciones buffer, y ácido acético 2.5% (v/v). Se prepararon soluciones buffer a pH 1, 5, 6, 7, 10 y 14. Posteriormente, en una caja Petri se colocaron 3 ml de las soluciones y aproximadamente 1 ml del gel de quitosano en cada solución. Se agitaron y se procedió a observar si se formaba precipitado o no.

5. Caracterización de biopolímeros.

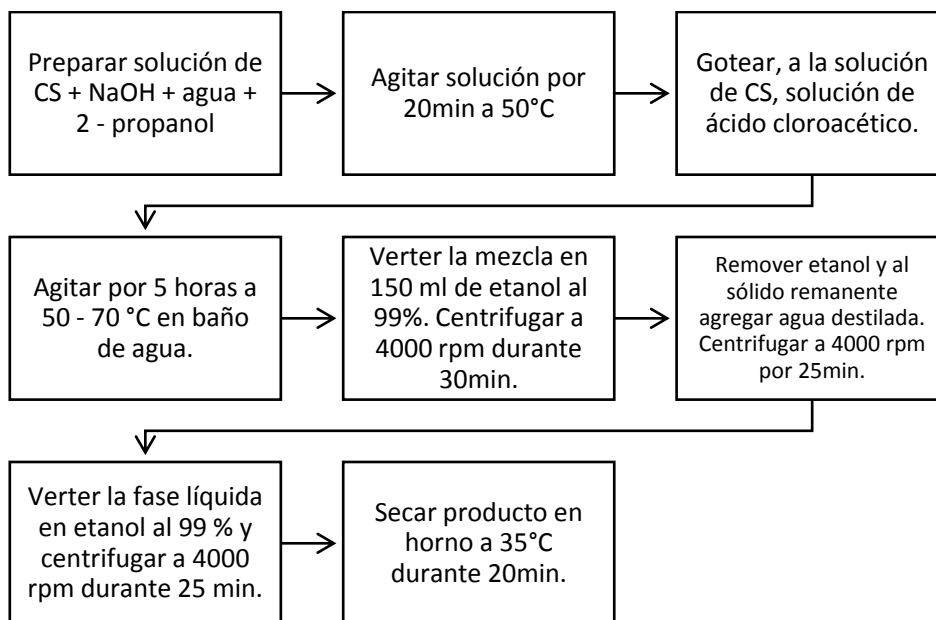
a. Análisis FTIR. La presencia de los grupos funcionales característicos de la quitina (QT) y quitosano (CS) se evaluaron utilizando espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT - IR). Se utilizó el espectrofotómetro FT IR Avatar 370 marca Thermo Nicolet, el cual se encontraba en las instalaciones de INAMOL, Universidad de Castilla La Mancha, Toledo, España. Se prepararon pastillas de bromuro de potasio con 0.5 mg de muestra y 3 mg de KBr. Se compararon las bandas características con bandas reportados en la literatura y se determinó el grado de acetilación y desacetilación de los biopolímeros a través de un estudio cuantitativo descrito en la sección de análisis estadístico.

b. Análisis Termogravimétrico. Se empleó un quipo Mettler Toledo TGA/DSC Sarte System. La cantidad de quitosano utilizada para este análisis fue de 1.0 – 1.5 mg. El gas acarreador fue nitrógeno a una velocidad de flujo de 50 mL min⁻¹. Las muestras fueron calentadas de 0 a 600 °C, para registrar las curvas de TG y DTG.

c. Difracción de rayos X. Se obtuvo el patrón de difracción de rayos X de las quitinas extraídas de pupario de macho y hembra, y del quitosano extraído de pupario macho purificado y sin purificar. Estos espectros se tomaron usando un equipo marca PANalytical modelo Empyrean, a 45 kV, 40 mA, 2θ con un ángulo de escaneo de 5.0038 a 84.9928, y a una temperatura de 25 °C.

6. Síntesis de carboximetilquitosano. Se siguió el procedimiento descrito por Kalliola y colaboradores 2017; con las modificaciones indicadas en la Figura 11.

Figura 11 Procedimiento para la síntesis de CMC – Na



En un balón de 150 ml para reflujo y dos bocas, se agregaron 0.70 g de NaOH, 0.50 g de CS, 5 ml de agua destilada y 10 ml de 2 – propanol. La mezcla se agitó por 20 min a 50 °C. Mientras tanto, se disolvieron 0.60 g de ácido cloroacético en 4 ml de 2 - propanol. Esta solución se colocó en una ampolla y se ajustó al sistema de reflujo; luego se añadió gota a gota a la solución de quitosano (CS). La agitación continuó por 5 horas a 50 – 70 °C, controlando la temperatura a través de un baño de agua. Luego se detuvo la agitación y la mezcla se vertió en un beaker de 250 ml y se lavó con 150 ml de etanol al 99% (v/v). Se dejó reposar por 12 horas.

Luego, la mezcla en etanol se centrifugó a 4000 rpm durante 30 min. El líquido, etanol, se removió y al sólido remanente se le agregó agua destilada. Posteriormente, se centrifugó a 4000 rpm por 25 min. La fase líquida, CMC – Na disuelto en agua destilada, se vertió en 150 ml de etanol al 99% (v/v). Finalmente, el sólido suspendido en etanol se centrifugó a 4000 rpm por 25 min. El producto, cristalino de color blanco, se recolectó en un beaker de 10 ml y se secó en un horno a 45 °C por 30 min.

7. Caracterización CMC. La presencia de grupos carboximetilo en el carboximetilquitosano sódico (CMC-Na) se determinó mediante la técnica de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT - IR).

8. Síntesis de nanopartículas de CMC - Ca. Se siguió el proceso descrito por Kalliola y colaboradores, 2017 pero con las modificaciones que se observan a continuación.

Figura 12 Procedimiento para sintetizar nanopartículas de CS.

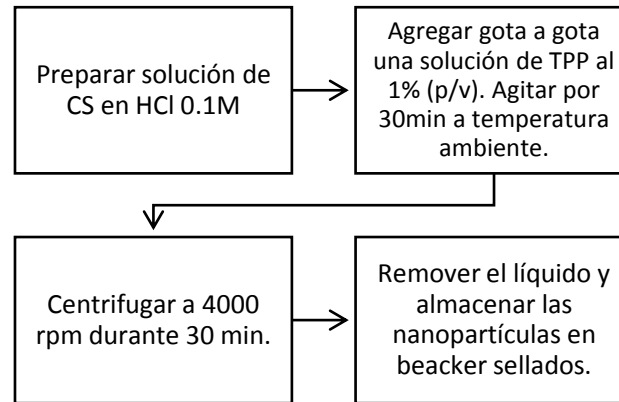
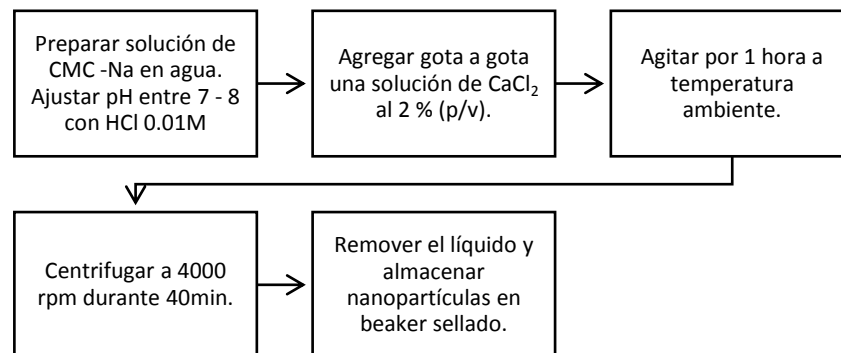


Figura 13 Procedimiento para sintetizar nanopartículas de CMC - Ca.

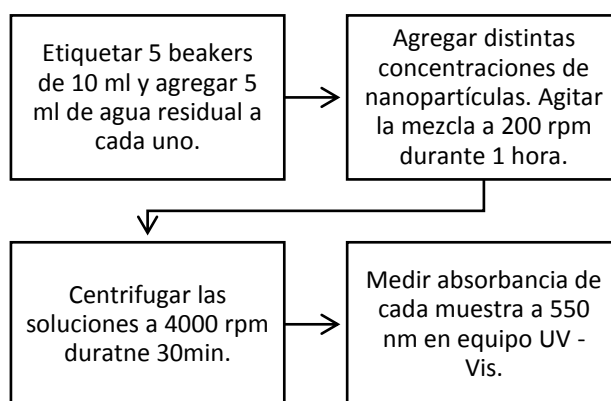


Se preparó una solución disolviendo 150 mg de CMC - Na en 150 ml de agua ajustando el pH entre 7 y 8 con solución de HCl 0.1 M. Se tomó una alícuota de 15 ml de la solución de CMC - Na y a esta solución se le agregó, gota a gota, 1.5 ml de una solución de CaCl₂ 1.5 % (p/v) mientras se agitaba a temperatura ambiente por 1 hora. Las nanopartículas se separaron por centrifugación a 4000 rpm por 1 hora. Posteriormente, se almacenaron en un beaker sellado con 5ml de agua destilada.

9. **Síntesis de nanopartículas de quitosano.** Se siguió el proceso descrito por Nasti y colaboradores, 2009. Se preparó una solución de ácido clorhídrico al 1 % (v/v), añadiendo 1 ml del ácido en 100 ml de agua destilada. Luego se preparó una solución de quitosano al 0.1 % (p/v), añadiendo 0.01 g de quitosano en 10 ml de la solución de ácido clorhídrico. Se determinó que el pH de la solución era alrededor de 3.5 – 4, esta solución se soniqueó y calentó a 35 °C por 30 min. Posteriormente, se agregó gota a gota, 1 ml de una solución de TPP al 1 % (p/v). La agitación continuó por 30min a temperatura ambiente. Se centrifugó por 1 hora a 4,000 rpm. Posteriormente, se secaron en desecadora por 24 horas.

10. **Pruebas de remoción del pigmento FO, AX-14-N.** Se siguió el procedimiento descrito en la Figura 14.

Figura 14 Procedimiento de pruebas para remoción del pigmento FO – AX – N – 14



En 5 beakers de 10 ml se colocaron 5 ml de la muestra de agua residual, previamente filtrada en el laboratorio. A cada uno se le agregó una cantidad distinta de nanopartículas descritas en el Cuadro 7. Estas condiciones se utilizaron tanto para el análisis de la muestra de agua antes de la filtración realizada en la planta de tratamiento actual (AF), como en los análisis de la muestra de agua después de este proceso (DF); usando nanopartículas de CMC – Ca extraído de moscas macho (CMC M), de hembra (CMC H), y nanopartículas de quitosano extraído de moscas macho (CS M).

Cuadro 7. Concentración de nanopartículas para pruebas de remoción del pigmento FO, AX-14-N en muestras de agua AF y DF.

Prueba	Concentración de nanopartículas (mg/0.005L)
1	8.5
2	19
3	33
4	60
Control	0

Luego de agregar las nanopartículas, los beakers se agitaron, con agitadores magnéticos, a 200 rpm durante 1 hora. Luego, las muestras se centrifugaron a 4000 rpm durante 25 min. Posteriormente, se procedió a las mediciones de absorbancia a 550 nm empleando técnicas de absorción atómica UV – Vis. Una vez determinada la absorbancia, se procedió al cálculo del porcentaje de remoción del pigmento FO, AX-14-N, según se describe en la sección de análisis estadístico.

K. Análisis estadístico

1. Cantidad de Zn y Cu en muestras de agua residual. Luego de preparar los estándares descritos en la sección J.1.b, se ingresaron al equipo Perkin Elmer PinAAcle 900F de menor a mayor concentración. El equipo realizó la medición de absorbancia y devolvió una curva de calibración que satisface la ecuación 1.

$$y = mx + b$$

Ecuación 1.

Donde y es la absorbancia en nanómetros y , donde x es la concentración en ppm. La curva de calibración será confiable si el valor del coeficiente de determinación R^2 es cercano a 1. Luego se ingresó la muestra de agua residual y el equipo, a partir de la ecuación de la recta y un análisis de regresión, reportó el valor de la concentración del metal estudiado a partir de la ecuación de la recta y un análisis de regresión.

2. Grado de acetilación y desacetilación. Los grupos funcionales característicos de los biopolímeros se identificaron al comparar los espectros experimentales con los teóricos. Asimismo, se determinó el porcentaje de desacetilación y N – Acetilación, que es el número de unidades de glucopiranos en la cadena del polímero que tiene el grupo N – acetil incorporado. La técnica de espectroscopia infrarroja permitió realizar una correlación de ciertas bandas de vibración. La correlación para la quitina (QT) y quitosano (CS) se presentan en la ecuación 2 y 3 respectivamente. El grado de desacetilación se determina según la ecuación 4. (Sierra *et.al*, 2013).

$$N - acetilación(\%) = \left(\frac{A_{Amida I}}{A_{OH}} \right) * 115$$

Ecuación 2

$$N - acetilación(\%) = 31.92 * \left(\frac{A_{Amida III}}{A_{Amida II}} \right) - 12.20$$

Ecuación 3.

$$GD(\%) = 100 - (\% N - acetilación)$$

Ecuación 4.

3. Remoción del pigmento *FO*, AX-14-N. Para las pruebas de remoción, se prepararon las muestras de agua como se muestra en el Cuadro 8 y se ingresaron al equipo UV – Vis. Con los datos de absorbancia reportados, se realizó un análisis correlacional empleando la ecuación 1. Donde la variable dependiente y será la absorbancia y la variable independiente x será la concentración de nanopartículas empleadas. Si la ecuación de la recta presenta un coeficiente de determinación R^2 cercano a 1, la ecuación representa a los datos de manera confiable. Por su parte, si R es cercano a 1, se concluirá que la concentración de nanopartículas está relacionada con la absorbancia (concentración) del pigmento presente en las muestras de agua residual.

Para determinar el porcentaje de remoción se emplearon los datos de absorbancia de cada muestra con diferente cantidad de nanopartículas. Y se utilizó la ecuación 6, donde A_a es la absorbancia de la muestra previo al tratamiento con nanopartículas y A_d es la absorbancia de la muestra luego de añadir las nanopartículas de CS o CMC – Ca.

$$\% de remoción = \frac{|A_a - A_d|}{A_a} \times 100$$

Ecuación 6.

VI. RESULTADOS

A. Análisis proximal harina de pupario de moscas *Ceratitis capitata*

Con el propósito de identificar el conjunto de componentes más abundantes en las harinas de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho; se realizó un análisis proximal de las harinas previamente tamizadas por un tamiz No. 80. El análisis se realizó en INLASA. De modo que se logró determinar los elementos constitutivos de cada muestra y la diferencia entre la pupa de moscas hembra y pupa de moscas macho.

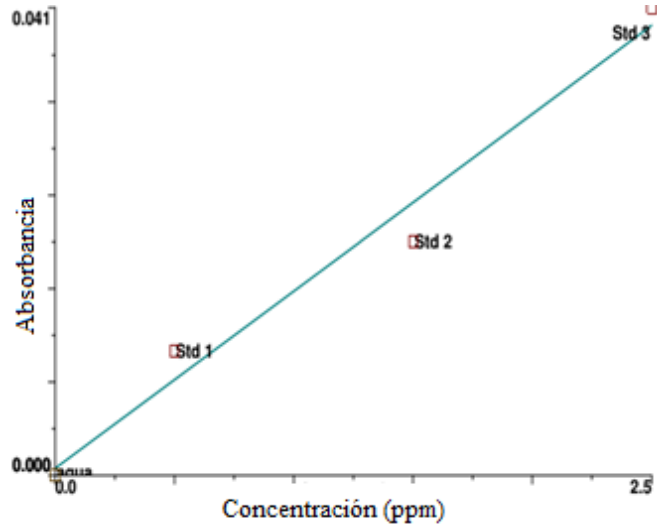
Cuadro 8. Resultados de análisis proximal de harina de pupario de moscas *Ceratitis capitata*

Muestra de harina	Calorías (cal/100g)	Carbohidratos totales (%)	Cenizas (%)	Grasas (%)	Humedad (%)	Proteína (%)
Hembra	338.98	21.01	22.15	10.26	5.93	40.65
Macho	325.85	26.20	25.56	6.41	5.99	40.84

B. Presencia de Cu y Zn en agua residual

El análisis elaborado en el equipo de absorción atómica permitió determinar la presencia de metales pesados en las muestras de agua residual antes de la filtración (AF) y después de la filtración (DF) realizada en la planta de tratamiento actual. Este análisis dio lugar a determinar si era necesario hacer un estudio acerca de la capacidad quelante de las nanopartículas sintetizadas. Se consideraron los límites aceptables establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS); la presencia de cobre en aguas residuales industriales no debe exceder los 2 ppm. Mientras que la presencia de zinc debe ser menor a 3 ppm. A continuación, se muestran las curvas de calibración para los metales analizados.

Figura 15 Curva de calibración para la determinación de cobre.



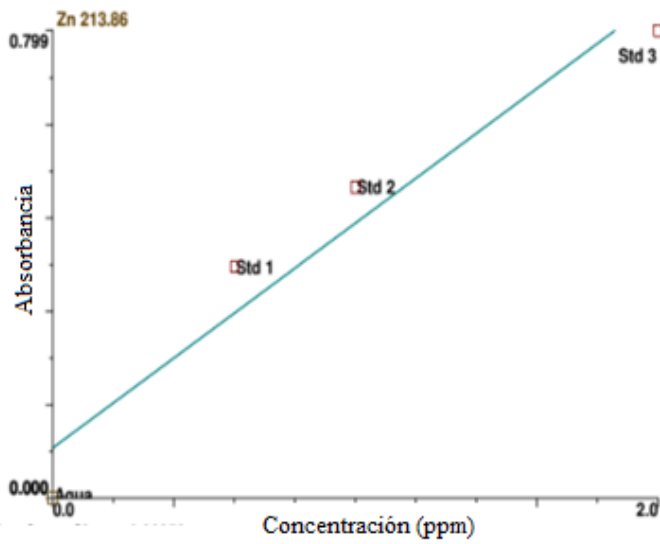
De la Figura 16 se obtuvo la ecuación de la recta

$$y = 0.01558x + 0.00064$$

Ecuación 6.

Con un coeficiente de correlación $R = 0.989$.

Figura 16 Curva de calibración para la determinación de zinc



De la Figura 17 se obtuvo la ecuación de la recta

$$y = 0.38358x + 0.08637$$

Ecuación 7.

Con un coeficiente de correlación $R = 0.969$. El valor del coeficiente de correlación, para ambas curvas de calibración (Figuras 15 y 16) es mayor a 0.95. Entonces, se concluye que la ecuación de la recta se ajusta satisfactoriamente a los datos obtenidos.

En el Cuadro 9 se reportan las concentraciones de Zn y Cu en las muestras de agua residual AF y DF analizadas por absorción atómica.

Cuadro 9. Concentración de Zn y Cu en las muestras de agua residual AF y DF

Muestra	Rep.	Concentración de Cu (± 0.001 ppm)	Concentración de Zn (± 0.001 ppm)
AF	1	0.835	0.070
	2	0.818	0.066
	3	0.829	0.068
	Media	0.829	0.068
	Desviación	0.015	0.002
DF	1	0.145	0.801
	2	0.182	0.807
	3	0.161	0.807
	Media	0.179	0.805
	Desviación	0.017	0.003

El análisis de absorción atómica confirmó la presencia de zinc y cobre en las muestras de agua AF y DF analizadas. Sin embargo, los valores para la media de la concentración de cada metal presente en las muestras fueron menores a 1.0 ppm; por lo tanto, no se excedieron los límites aceptables establecidos por la OMS.

C. Caracterización de biopolímeros por espectroscopía FT IR

La espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier permitió determinar la presencia de los grupos funcionales característicos de las quitinas (QT), quitosano (CS) y carboximetilquitosanos sintetizados. De este modo, se pudo confirmar si la síntesis de biopolímeros fue exitosa o no.

1. Extracción de quitinas. En las Figuras 17 y 18 se observan los espectros de la quitina extraída de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho respectivamente.

Figura 17 Espectro FT IR quitina extraída de pupario de moscas hembra *Ceratitis capitata*.

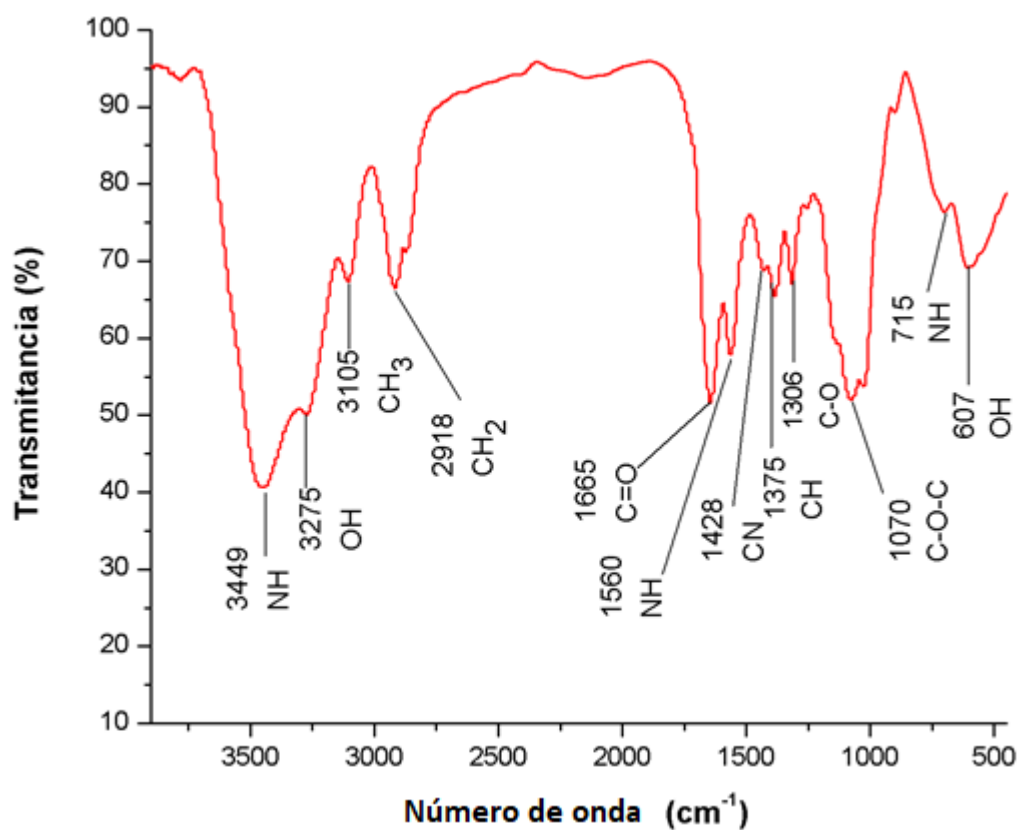
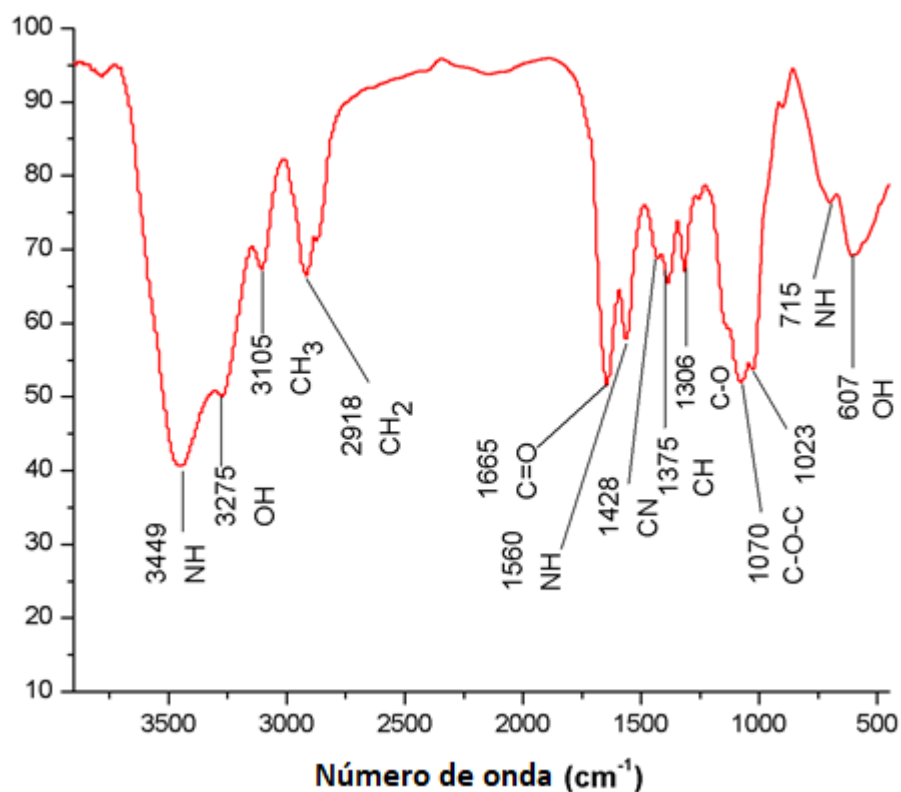


Figura 18 Espectro FT IR quitina extraída de pupario de moscas macho *Ceratitis capitata*.



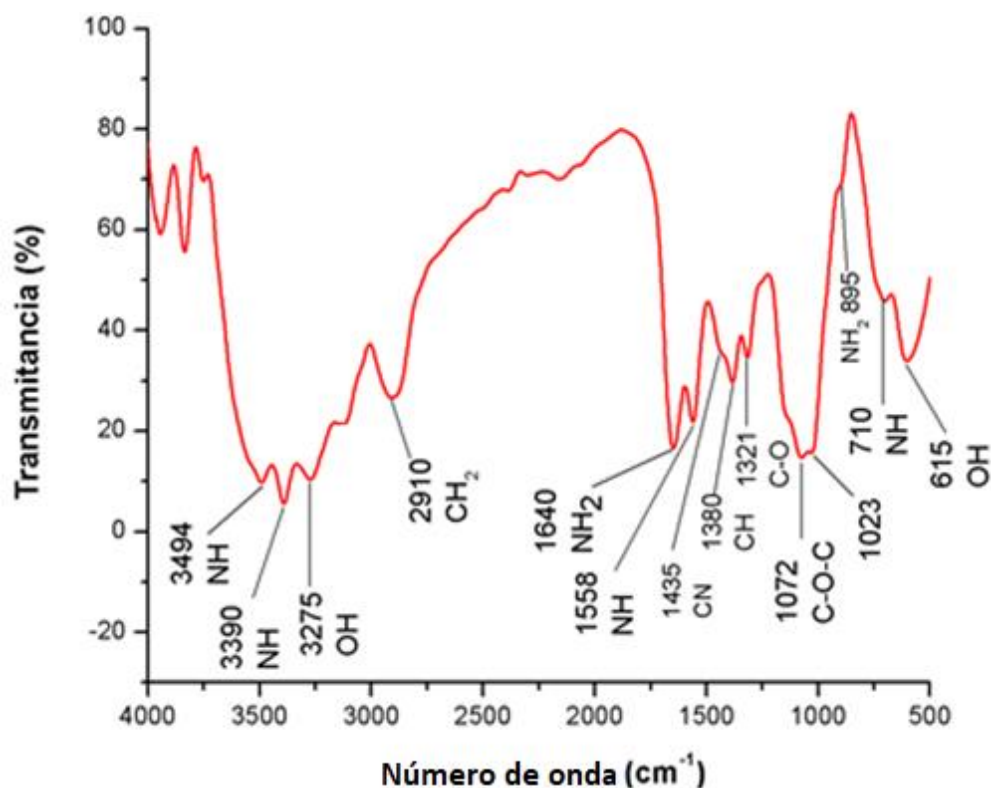
En ambos espectros (Figuras 17 y 18) se mostraron las bandas de los grupos funcionales característicos de la quitina, principalmente señales de hidroxilos, aminas y el grupo carbonilo. Se observan bandas alrededor de 3449 cm^{-1} y 3275 cm^{-1} , las cuales se atribuyen a las vibraciones de estiramiento de los grupos NH y OH, respectivamente. Las bandas en 3105 cm^{-1} y 3102 cm^{-1} fueron bandas de estiramiento simétrico y asimétrico de los enlaces C – H sp^3 de los grupos CH₃. Las señales en 2918 cm^{-1} se atribuyeron al estiramiento simétrico de los enlaces C – H sp^3 de los grupos CH₂. Se observó el estiramiento característico del carbonilo C = O, atribuido a la vibración de la amida I, en 1665 cm^{-1} y 1664 cm^{-1} .

A 1560 cm^{-1} y 1562 cm^{-1} se presentaron las bandas por la flexión del enlace NH de la amida II. En 1428 cm^{-1} y 1430 cm^{-1} se mostró el estiramiento del enlace C-N. Las bandas a 1375 cm^{-1} y 1378 cm^{-1} corresponden al estiramiento simétrico de los grupos CH₃. Las señales en 1306 cm^{-1} y 1316 cm^{-1} mostraron las vibraciones de los grupos C – O de la amida III. Las bandas en 1072 cm^{-1} y 1070 cm^{-1} indican la vibración de los enlaces C – O – C dentro del anillo de la quitina. Es válido mencionar que también se encontraron vibraciones a 1021 cm^{-1} para los espectros de ambas quitinas, esta señal indicó los enlaces C – O – C del enlace glucosídico. En el área de $605 - 606\text{ cm}^{-1}$ y $705 - 715\text{ cm}^{-1}$ también se mostraron bandas características, fuera

del plano, de los grupos OH y NH respectivamente. Se lograron identificar los grupos funcionales característicos de la quitina en ambos espectros, concluyendo que la extracción de quitina fue exitosa.

2. **Síntesis de quitosanos.** En las Figuras 19 y 20 se observaron los espectros FT IR del quitosano extraído de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho respectivamente. Estos espectros fueron similares a los de las quitinas, pues la estructura de ambos biopolímeros está conformada con casi los mismos grupos funcionales. Los grupos funcionales característicos del quitosano son: hidroxilos, aminas, enlaces C – N, C – O – C, C – O, y CH₂. La principal diferencia con los espectros de las quitinas es que los de quitosanos no deberían presentar la señal del grupo carbonilo C = O de las amidas primarias; ya que este es el grupo que se reemplaza por una amina primaria luego del proceso de desacetilación.

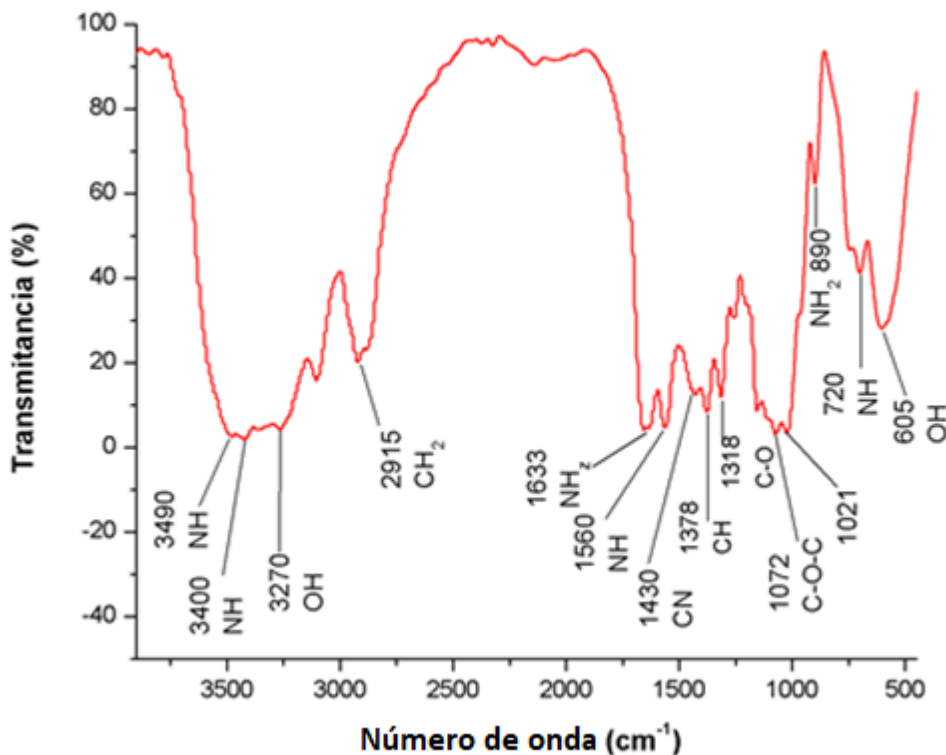
Figura 19 Espectro FT IR de quitosano extraído de pupario de moscas hembra *Ceratitis capitata*



En los espectros de las Figuras 19 y 20 fue notorio un cambio en el rango de 3900 – 3000cm⁻¹; atribuido a la presencia de una amina primaria alifática. Lo anterior fue la primera confirmación de que se logró desacetilar las amidas en las estructuras de las quitinas, para obtener aminas primarias en las estructuras de los quitosanos. Estas señales en la Figura 20 no

fueron claras por efectos de ruido electrónico, sin embargo, se pudo observar bandas débiles en 3490 cm^{-1} y 3400 cm^{-1} .

Figura 20 Espectro FT IR de quitosano extraído de pupario de moscas macho *Ceratitis capitata*



Se observan bandas a 1640 cm^{-1} y 1633 cm^{-1} respectivamente, los cuales corresponden al movimiento tipo tijera del grupo NH_2 . Esta fue la segunda confirmación de que se logró la desacetilación; pues ya no se observan señales a $1660 - 1700\text{ cm}^{-1}$ del grupo carbonilo $\text{C} = \text{O}$ de las amidas I. Asimismo, fueron notables bandas a 895 cm^{-1} y 890 cm^{-1} que son señales correspondientes a la vibración fuera del plano de los grupos NH_2 . Es válido mencionar que el ensanchamiento de las bandas en las regiones de $3500 - 2900\text{ cm}^{-1}$, en las Figuras 19 y 20, fue el resultado del efecto de los puentes de hidrógeno por la gran la cantidad de grupos OH y NH que hay en la estructura de los quitosanos. Las bandas a $1021 - 1023\text{ cm}^{-1}$ son características de enlaces glucosídicos e indican el enlace $\text{C} - \text{O} - \text{C}$.

En el espectro FTIR del quitosano purificado (Figura 21), no se observan las mismas bandas que en los espectros de las Figuras 19 y 20. Se observa una única banda ancha en el rango de $3500 - 3150\text{ cm}^{-1}$ correspondiente a grupos OH y/o NH. Sin embargo, son evidentes las señales a 1643 cm^{-1} del grupo NH_2 y no se observa la señal del grupo carbonilo $\text{C} = \text{O}$ de la amida I, por tanto, se confirma la desacetilación. Asimismo, se observa la señal a 867 cm^{-1} de

las aminas que se formaron luego de desacetilar. La banda fuerte a 1020 cm^{-1} es características de enlaces glucosídicos e indican el enlace C – O – C. Y la banda intensa a 1560 indica la presencia de los grupos N – H característicos de la estructura del quitosano.

Figura 21 Espectro FTIR del quitosano purificado extraído del pupario de moscas *Ceratitis capitata* macho

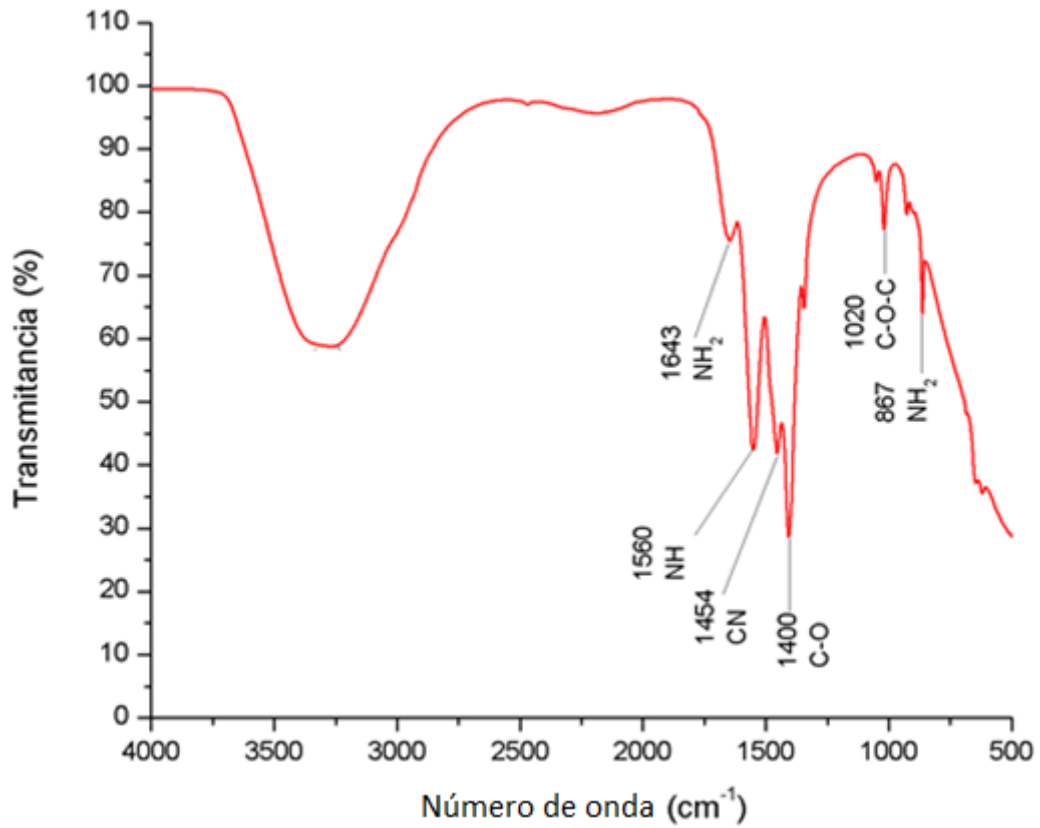
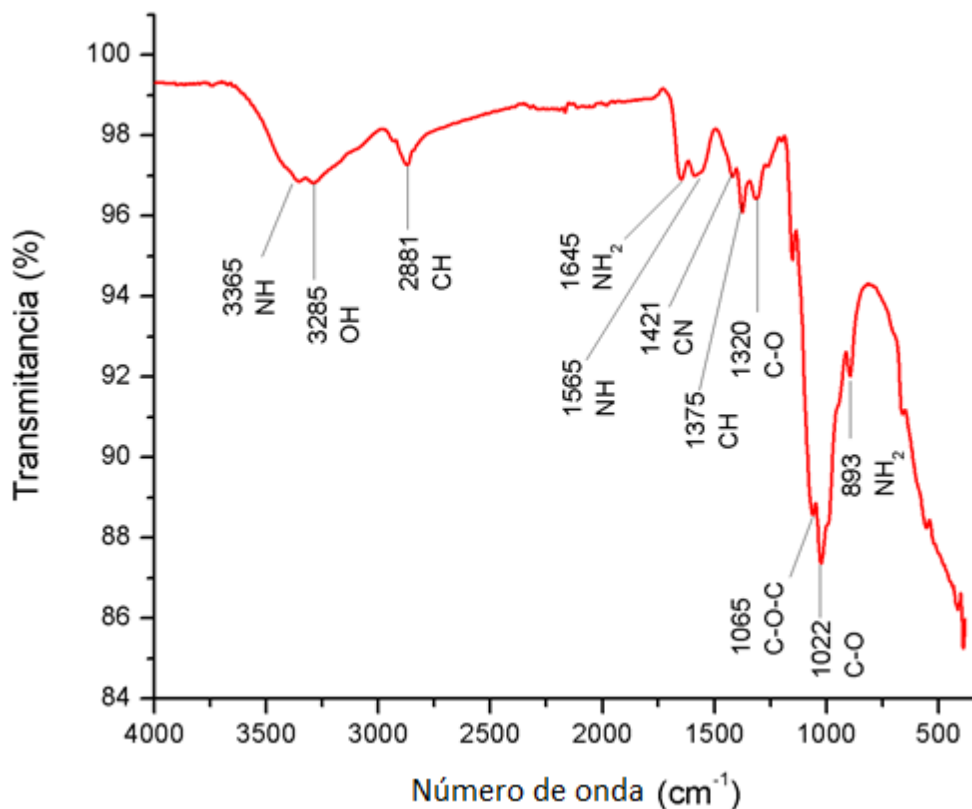


Figura 22 Espectro FTIR de quitosano comercial extraído de camarón.



Los espectros de las Figuras 19 – 21 están en acuerdo con el espectro del quitosano comercial extraído de camarón (Figura 22). Por lo tanto, se confirmó que la síntesis de quitosanos a partir de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho fue exitosa.

3. Síntesis de carboximetilquitosanos. El espectro de los carboximetilquitosanos sintetizados a partir de quitosano extraído de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho fueron analizados, empleando un espectrofotómetro infrarrojo marca Buck Scientific modelo M500, para evaluar el éxito de la reacción de carboximetilación. Los resultados se muestran en las Figuras 23 y 24, respectivamente; por el equipo empleado, estos espectros FTIR presentaron mayor ruido electrónico que los espectros de las Figuras 17 – 22. Debido a que los carboximetilquitosanos fueron preparados en soluciones alcalinas, los grupos carboxil estaban deprotonizados.

Figura 23 Espectro FTIR de CMC - Na extraído de pupario de moscas hembra *Ceratitis capitata*

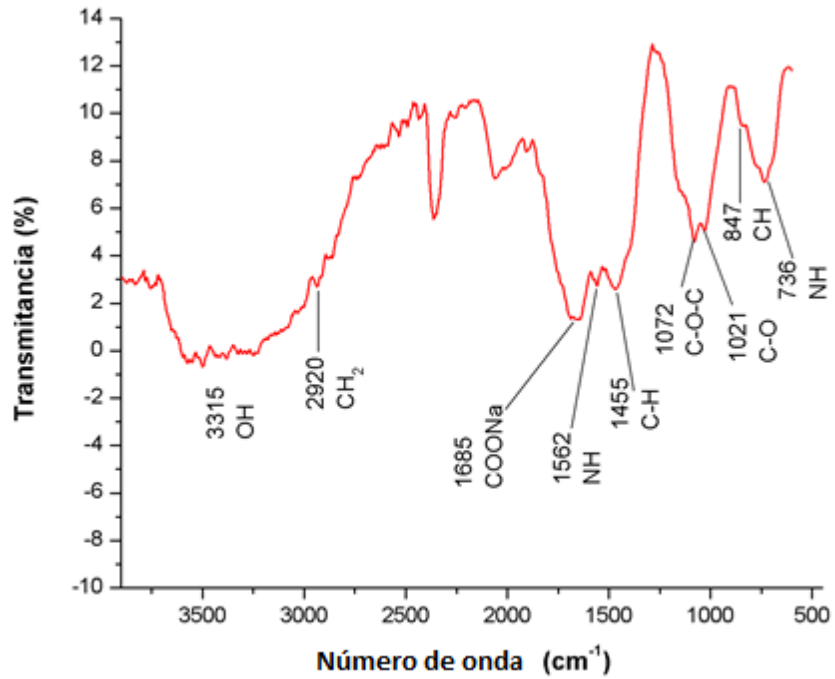
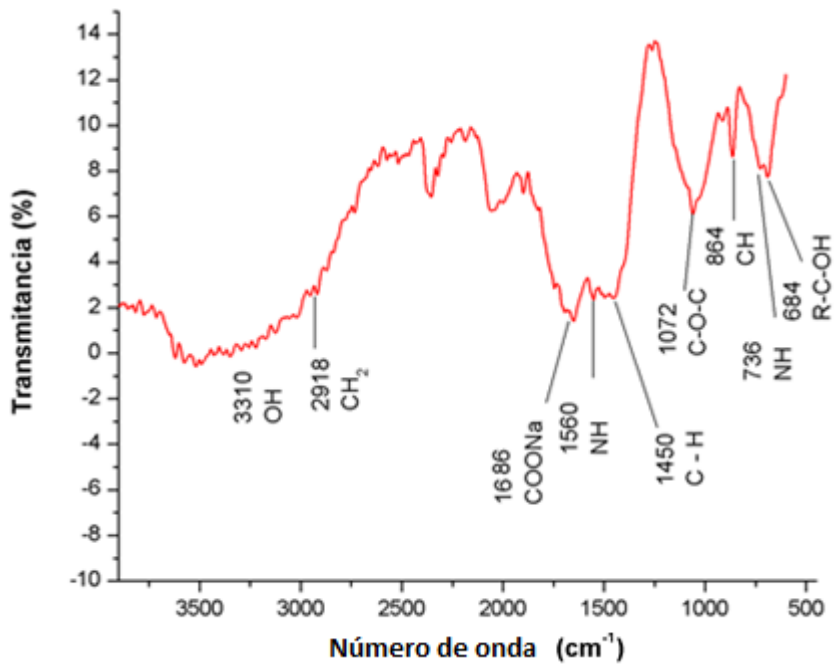


Figura 24 Espectro FTIR de CMC - Na extraído de pupario de moscas macho *Ceratitis capitata*



Después de la carboximetilación del quitosano, en los espectros FT IR de las Figuras 23 y 24, aparecieron bandas a 1686 cm^{-1} y 1685 cm^{-1} respectivamente, las cuales se atribuyeron al solapamiento del grupo $-\text{COONa}$ con el grupo NH_2 . Las señales a 3310 cm^{-1} y 3315 cm^{-1} fueron del grupo OH del ácido carboxílico que estaba presente previo a la formación del $-\text{COONa}$. La banda característica del grupo carbonilo del ácido carboxílico aparecería alrededor de 1720 cm^{-1} , pero esta señal no fue detectada, indicando que el producto se encontraba en forma de sal sódica.

Las señales a 1560 cm^{-1} y 1562 cm^{-1} fueron del estiramiento del grupo NH de la amida II. La señal en 1072 cm^{-1} fue por la vibración del enlace $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ dentro del anillo del carboximetilquitosano; mientras que la señal en $1020\text{ cm}^{-1} - 1021\text{ cm}^{-1}$ fue por el estiramiento $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ del enlace glucosídico ($\beta - (1\rightarrow4)$). Las bandas detectadas a 736 cm^{-1} correspondieron a la vibración fuera del plano de los grupos NH. En la Figura 24, la banda reportada a 684 cm^{-1} indicó vibración fuera del plano del alcohol primario. Por las señales detectadas en los espectros FTIR de las Figuras 23 y 24, se confirmó que la síntesis de carboximetilquitosanos a partir de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho, fue exitosa.

4. Difracción de rayos X. Las muestras de quitinas y quitosanos extraídos del pupario de moscas macho y hembra fueron analizadas por difracción de rayos X (DRX). Los resultados se muestran a continuación.

Figura 25 Difractograma de quitina extraída del pupario de moscas hembra *Ceratitis capitata*.

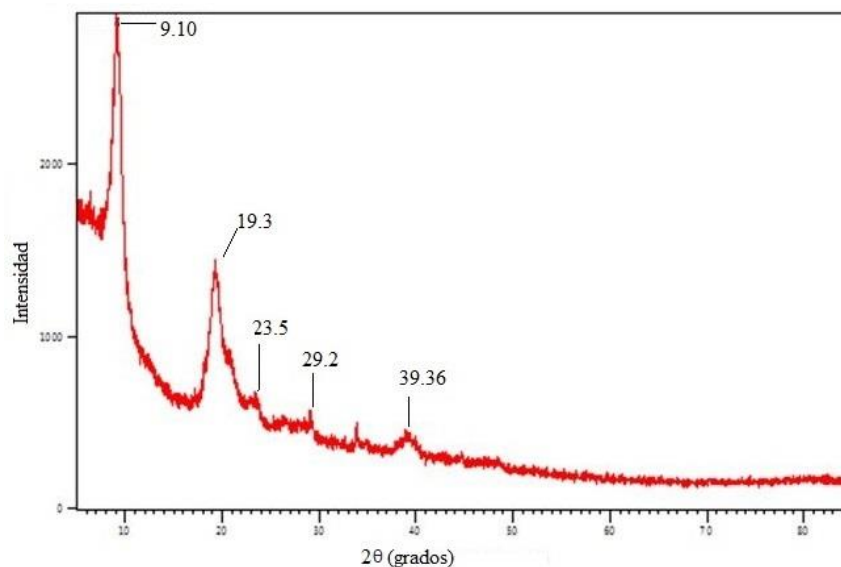
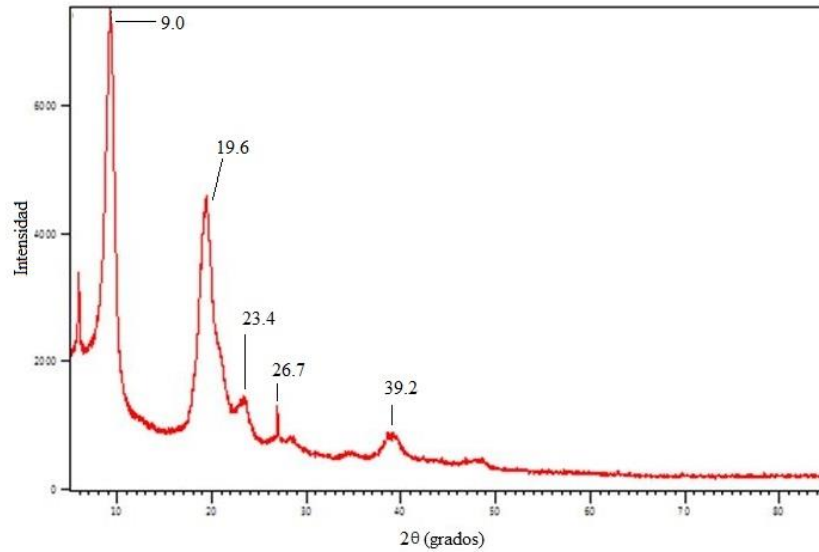


Figura 26 Difractograma de quitina extraída del pupario de moscas macho *Ceratitis capitata*.



Típicamente los patrones de difracción para la quitina y quitosano son picos fuertes a 9 – 10° y 20 – 21° y reflexiones menores a 26.4° (Kumirska *et al.*, 2010). El patrón de difracción de las quitinas extraídas del pupario de moscas hembra y macho muestran picos de difracción en el intervalo de fragmentación (2θ) en 9.10, 19.3, 23.5, 29.2, 26.7 y 39.36° (Figura 25 y 26). Estos resultados están en acuerdo con los patrones de picos que se reportan para la quitina extraída de camarón, donde las señales predominantes son entre 9.1 – 9.2° y 19.1 – 19.2° (Yen y Mau, 2007).

Figura 27 Difractograma de quitosano, sin purificar, extraído del pupario de moscas macho *Ceratitis capitata*.

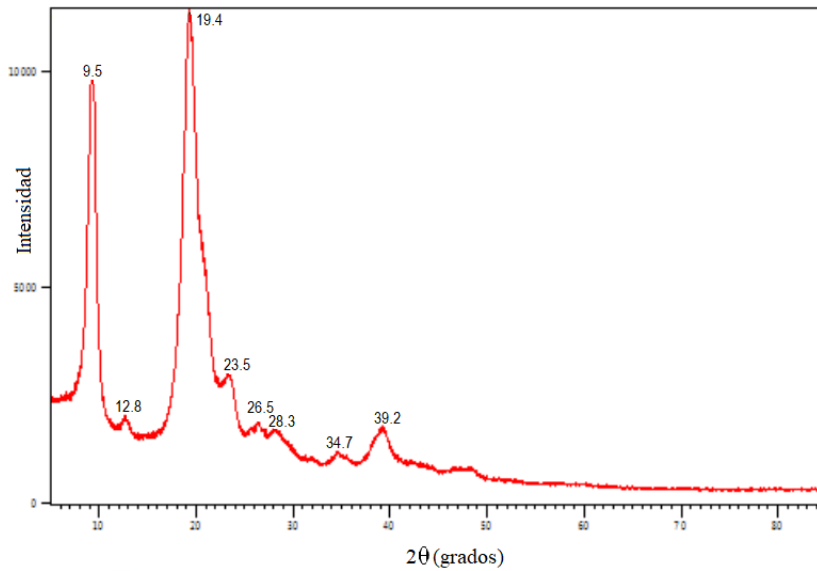


Figura 28 Difractograma del quitosano, sin purificar, extraído del pupario de moscas hembra *Ceratitis capitata*

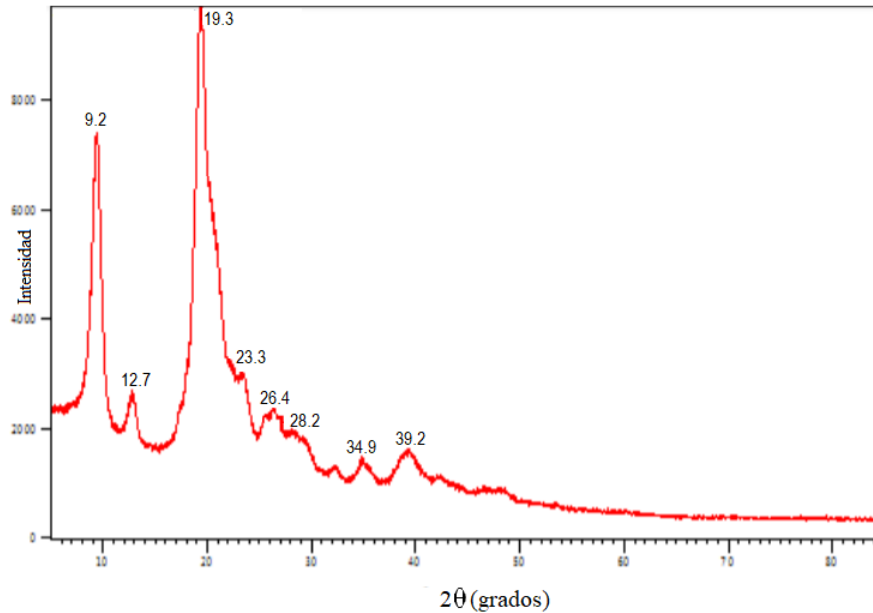
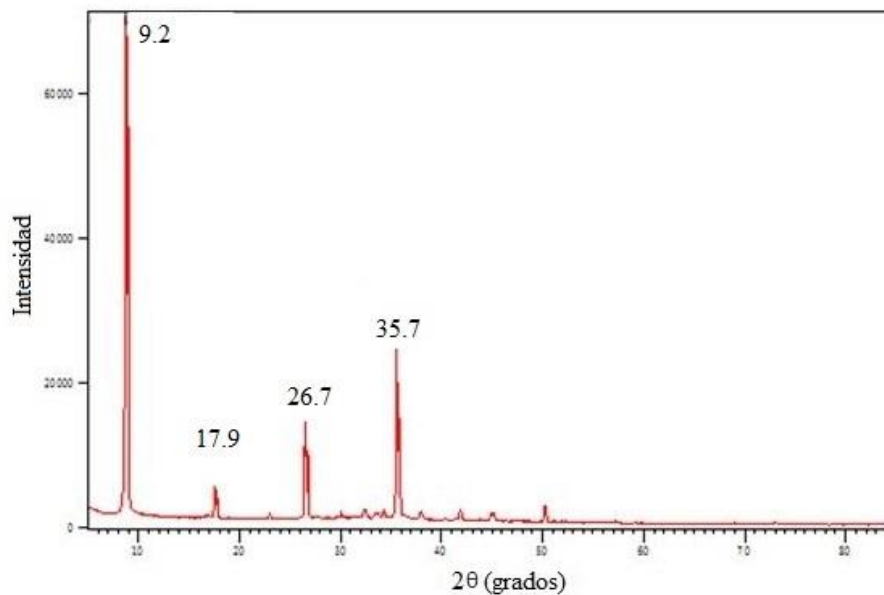


Figura 29 Difractograma del quitosano, purificado, extraído del pupario de moscas macho *Ceratitis capitata*



Para los quitosanos extraídos del pupario de moscas hembra y macho se observan picos característicos entre $9.2 - 9.5^\circ$ y $19.3 - 19.4^\circ$; lo cual también concuerda con lo reportado por la literatura. Para la muestra de quitosano extraído del pupario de moscas macho purificada, se observa que, los picos son más definidos, aumenta la intensidad del pico en 9.2° y aparecen

señales a 17.9, 26.7 y 35.7°. Resultados similares fueron propuestos por Prashant y Tharanathan (2005), quienes realizaron una depolimerización del quitosano comercial de camarón.

5. **Análisis TGA.** El análisis termogravimétrico permite observar el cambio del peso de cierto compuesto en función de la temperatura que posee la muestra. Mientras que la curva DTG brinda información del porcentaje y banda de temperatura del cambio en masa de las muestras. Con base en esto, se obtuvieron termogramas que permiten observar las curvas de descomposición de las muestras de quitosano extraído de moscas *Ceratitis capitata*, tanto de hembra como de macho. De este modo, se logró determinar la pureza de los biopolímeros y la temperatura a la cual los quitosanos se descomponen. En las Figuras 30 y 31 se observan los termogramas de los quitosanos donde se muestran las diferentes temperaturas en las que sufren cambios. Por un lado, la temperatura de inflexión permite determinar la temperatura a la cual el quitosano tiene una pérdida significativa de peso, antes de llegar a la temperatura final. Esta última, es la temperatura en la cual el quitosano se ha descompuesto en su totalidad.

En la Figura 30 se observa que para el quitosano extraído de macho (CSM) hubo una primera pérdida de masa de 5.67 %. La segunda pérdida de masa, y la más significativa, fue de 60.29 %. Además, se evidenció que la temperatura de descomposición es 373.39 °C. Por su parte, en la Figura 31 para el quitosano extraído de pupario de moscas hembra, la primera pérdida de masa fue de 5.10%; y la pérdida de masa más evidente fue de 60.11 %. Mientras que la temperatura de descomposición fue inferior a la del quitosano extraído de moscas hembra con un valor de 368.75 °C. En los termogramas de las Figuras 30 y 31 se considera una única curva de descomposición significativa (60.29% y 60.11% de pérdida de masa respectivamente).

Figura 30 Curva TGA y DGT para quitosano extraído de pupario de moscas macho *Ceratitis capitata*

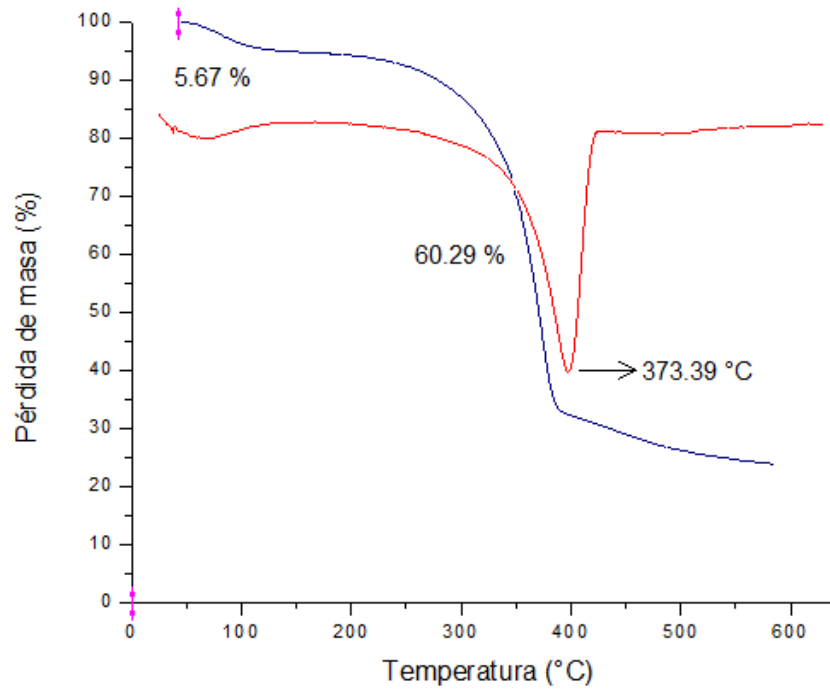
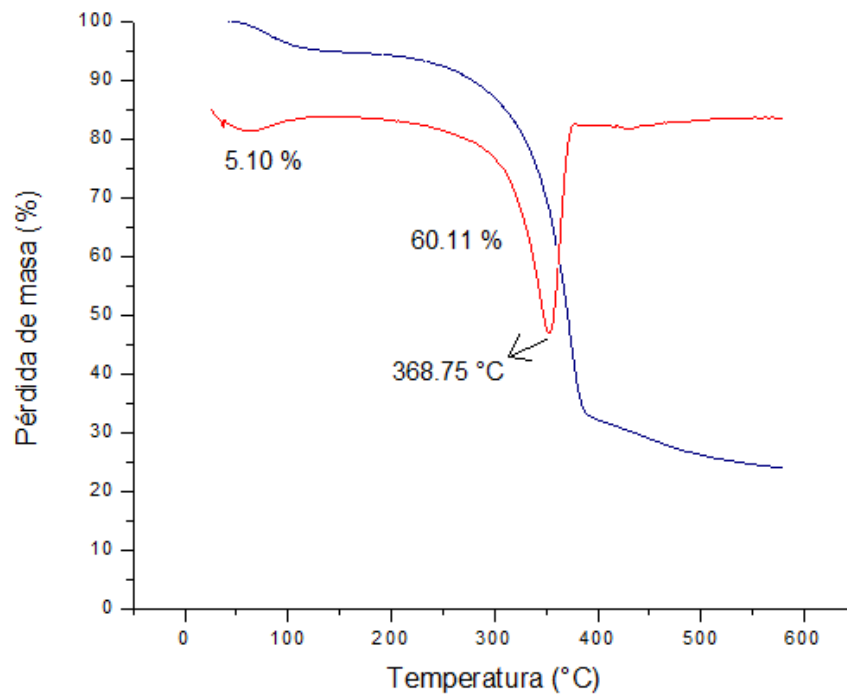


Figura 31 Curva TGA y DGT para quitosano extraído de pupario de moscas hembra *Ceratitis capitata*



D. Calidad de biopolímeros

La calidad de los biopolímeros se determinó a través de los espectros FT IR de las Figuras 17 – 20, a través de una correlación de bandas según las ecuaciones 2, 3 y 4. Estas correlaciones son entre bandas de grupos amida I, OH y amida II. Se esperaría que el grado de N – Acetilación para la QT fuese mayor al 90 %, lo cual indicaría un grado de desacetilación menor al 10 % y, por tanto, una quitina de calidad. Para el CS se esperaría lo contrario, un porcentaje de N – Acetilación menor al 10 % para presentar un grado de desacetilación mayor al 90 %. Los resultados se muestran en el Cuadro 10, donde CSM es la muestra de quitosano extraído de pupario de macho y, CSH es el extraído de pupario de hembra. Por su parte QTM refiere a la muestra de quitina extraída de la pupario de macho y QTH de hembra.

Cuadro 10. GD y GA de quitinas y quitosanos extraídos de pupario de moscas *Ceratitis capitata* macho y hembra.

Muestra	GA	GD
CSM	12.68	87.32
CSH	13.35	86.65
QTH	77.41	22.59
QTM	83.30	16.70

De los resultados reportados en el cuadro anterior, se logró identificar que existe una diferencia en la calidad de los biopolímeros según el sexo de las moscas.

E. Pruebas de solubilidad

Se estudió la solubilidad del quitosano extraído del pupario de moscas *Ceratitis capitata* macho según la variación del pH utilizando soluciones buffer. En el Cuadro 11 se muestran los resultados. Donde +++ significa soluble, ++ parcialmente soluble, + presencia de precipitado y – insoluble.

Cuadro 11. Resultados pruebas de solubilidad de quitosano purificado

pH	Solubilidad
1	-
5	++
6	+++
7	+
10	-
14	-

Del cuadro anterior se puede identificar que, para que el quitosano purificado extraído del pupario de moscas *Ceratitis capitata* macho sea soluble se necesita una solución a pH 6.

F. Remoción del pigmento fluorescente empleando nanopartículas.

El porcentaje de remoción para el pigmento fluorescente Fire Orange, empleando nanopartículas de quitosano y carboximetilquitosano, se determinó con técnicas de espectroscopía UV – Vis. Según la Ley de Beer, para una misma especie absorbente en una celda de espesor constante, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración. Por lo tanto, resultó útil emplear esta técnica para determinar la absorbancia (concentración) del pigmento fluorescente presente en muestras de agua, antes de la filtración (AF) y después de la filtración (DF) realizada en la planta de tratamiento actual. En los Cuadros 12 – 14 se reportaron las absorbancias a 550 nm para las muestras de agua AF y DF luego de agregar distintas concentraciones de nanopartículas.

Cuadro 12. Absorbancia a 550 nm para muestra de agua AF y DF luego del tratamiento con nanopartículas de CS.

Concentración nanopartículas de CS (mg/0.005 L)	Absorbancia (± 0.00001 nm)	
	Muestras de agua AF	Muestras de agua DF
0	0.85242	0.51588
8.5	0.77165	0.48094
19	0.57583	0.37751
33	0.56857	0.29632
60	0.52699	0.29304

Cuadro 13. Absorbancia a 550 nm para muestra de agua AF y DF luego del tratamiento con nanopartículas de CMC – Ca extraído de pupa de moscas hembra.

Concentración nanopartículas de CMC – Ca H (mg/0.005 L)	Absorbancia (± 0.00001 nm)	
	Muestras de agua AF	Muestras de agua DF
0	0.85242	0.51588
8.5	0.32416	0.25241
19	0.29767	0.24213
33	0.28289	0.22976
60	0.27730	0.19601

Cuadro 14. Absorbancia a 550 nm para muestra de agua AF luego del tratamiento con nanopartículas de CMC – Ca extraído de pupa de moscas macho.

Concentración nanopartículas de CMC – Ca M (mg/0.005 L)	Absorbancia (± 0.00001 nm)	
	Muestras de agua AF	Muestras de agua DF
0	0.85242	0.51588
8.5	0.35308	0.31376
19	0.34379	0.30178
33	0.32974	0.26322
60	0.29636	0.26276

Es válido mencionar que únicamente se utilizaron nanopartículas de quitosano extraído de pupario de moscas *Ceratitis capitata* macho (CS M), pues este fue el quitosano de mejor calidad (Cuadro 10). De los resultados reportados en los Cuadros 12 – 14 se pudo confirmar que las nanopartículas de CS M, CMC – Ca M, y CMC – Ca H, fueron capaces de remover el pigmento fluorescente de las muestras de agua residual. Asimismo, se logró demostrar que, al agregar mayor concentración de nanopartículas, la absorbancia (concentración) del pigmento fluorescente Fire Orange presente en las muestras de agua disminuía.

En los Cuadros 15 y 16 se presentan los porcentajes de remoción, al emplear nanopartículas de CS M, CMC – Ca H y CMC – Ca M, para el pigmento fluorescente Fire Orange presente en muestras de agua residual AF y DF. Este porcentaje se calculó según la ecuación 7; donde se consideró la absorbancia de las muestras de agua antes de agregar las nanopartículas y la absorbancia luego de añadirlas.

Cuadro 15. Porcentaje de remoción del pigmento FO, AX-14-N de muestras de agua AF según la concentración de nanopartículas.

Nanopartículas	Concentración de nanopartículas (mg/0.005L)				
	0	8.5	19	33	60
CS	0	9.48	32.45	33.30	38.18
CMC – Ca H	0	61.97	65.08	66.81	67.47
CMC – Ca M	0	58.58	59.67	61.32	65.23

Cuadro 16. Porcentaje de remoción del pigmento FO, AX-14-N de muestras de agua DF según la concentración de nanopartículas.

Nanopartículas	Concentración de nanopartículas (mg/0.005L)				
	0	8.5	19	33	60
CS	0	6.77	26.82	42.56	43.20
CMC – Ca H	0	51.07	53.06	55.46	62.00
CMC – Ca M	0	39.18	41.50	48.98	49.07

De los resultados reportados en los Cuadros 15 y 16, se confirmó que las nanopartículas de CS M, CMC – M y CMC – H, fueron capaces de remover más del 50 % del pigmento fluorescente presente en las muestras de agua residual AF y DF. Lo anterior se demostró en los gráficos del porcentaje de remoción versus concentración de nanopartículas de las Figuras 31 y 32.

Figura 32 Comparación del porcentaje de remoción para el pigmento Fire Orange AX en muestras de agua AF.

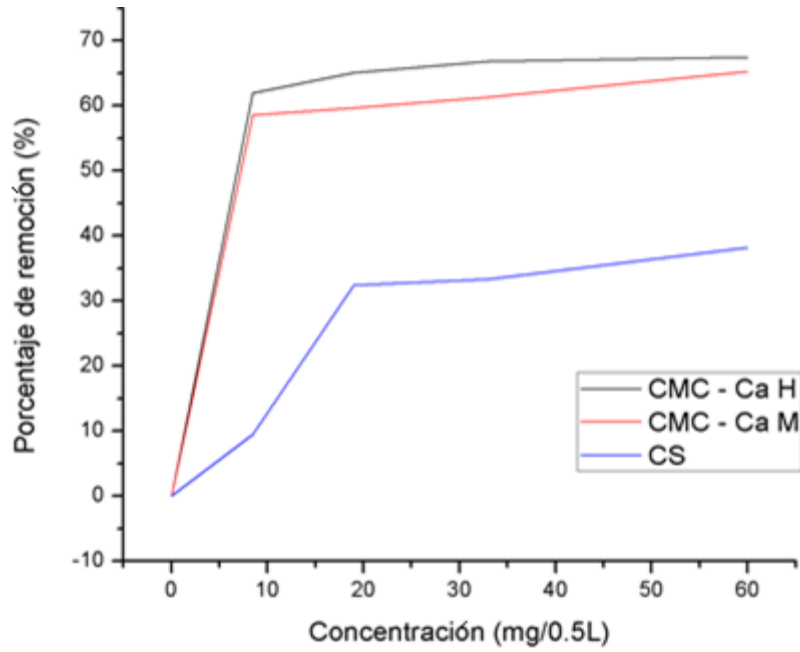
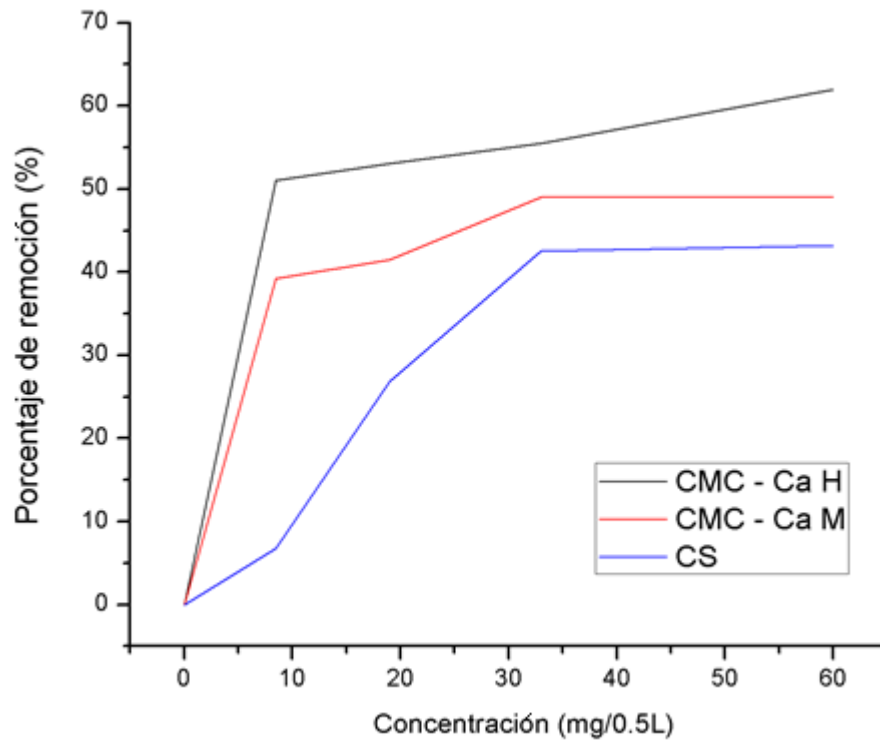


Figura 33 Comparación del porcentaje de remoción para el pigmento Fire Orange AX en muestras de agua DF



VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La mosca *Ceratitis capitata* es una plaga agrícola destructiva capaz de adaptarse a diversos climas, lo que favorece su amplia distribución mundial, que ocasiona daños directos a la producción y comercialización de cultivos agrícolas. La hembra puede poner hasta 20 huevos al día, colocando hasta 800 huevos durante toda su vida. Para erradicar la plaga en Guatemala, se emplea la técnica del insecto estéril (Moscamed Guatemala, 2017). Sin embargo, esta técnica genera hasta 70 kilos de desechos de pupario y exoesqueleto de moscas semanalmente, el cual se desecha o utiliza como fertilizante. Por este motivo la esta investigación busca producir algún producto de valor agregado para el manejo de desechos en una planta de producción y esterilización de la mosca del Mediterráneo.

Se propuso la innovación del proceso de tratamiento de aguas residuales de la planta; a través de la extracción de quitina (QT) de residuos de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho; y su posterior conversión a quitosano (CS). Se realizó la síntesis de nanopartículas de carboximetilquitosano – Ca, y nanopartículas de quitosano por reticulación iónica. Estas nanopartículas se sometieron a pruebas de capacidad de remoción para el pigmento fluorescente Fire Orange presente en muestras de agua residual antes del proceso de filtración realizado en la planta de tratamiento actual (AF) y después de este proceso (DF) (Figuras 38 y 39). Se determinó que las nanopartículas de carboximetilquitosano – Ca extraídas de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra fueron las más eficientes, logrando remover hasta el 67.47 % del pigmento fluorescente. A continuación, se presenta un análisis detallado de los resultados.

Los metales pesados en el agua potable representan una amenaza para la salud humana. Las poblaciones están expuestas a metales pesados principalmente a través del consumo de agua, pero pocos metales pesados pueden bioacumularse en el cuerpo humano (por ejemplo, en los lípidos y el sistema gastrointestinal) y pueden inducir cáncer y otros riesgos (Chowdhury *et.al*, 2016). Por lo tanto, como en este estudio se trabajó con muestras de aguas residuales industriales, fue necesario determinar la presencia de metales pesados en el agua. Debido a que no se emplean metales pesados como Hg, Au, Pb, o As, dentro de los procesos de la empresa; se trabajó con metales que pueden proceder de las tuberías como el zinc y cobre. Si se encontraba una cantidad mayor al límite aceptable por la OMS de zinc (3 ppm) y/o cobre (2 ppm) presente en las muestras de agua, resultaría necesario hacer un estudio de capacidad quelante de las nanopartículas sintetizadas.

El cobre es un metal noble que posee resistencia contra la corrosión, entonces es común encontrarlo en las tuberías hidráulicas. El desprendimiento de cobre de las tuberías es un suceso poco común porque se cuenta con una película de óxido cuproso que inhibe la corrosión en los sistemas de agua (Lane, 1995). Sin embargo, como se observa en el Cuadro 9, hay mayor presencia de cobre en las muestras de agua AF (0.829 ppm), que en las muestras de agua DF (0.179 ppm). La interacción del agua con las tuberías podría explicar la presencia de cobre en las muestras analizadas. Además, puede que el filtro empleado en la planta de tratamiento actual sea capaz de retener el exceso de cobre.

Por su parte, existe mayor concentración de zinc en las muestras de agua DF (0.850 ppm) que en las muestras de agua AF (0.068 ppm). Por lo tanto, podría haber desprendimiento de zinc en las tuberías por donde fluye el agua luego de la filtración. Se concluye que hay presencia de cobre y zinc en el agua AF y DF. Sin embargo, las concentraciones de zinc y cobre reportadas están por debajo de los límites establecidos por la OMS. Entonces, se decidió no determinar la capacidad quelante de las nanopartículas sintetizadas. Para futuras experimentaciones, se recomienda usar al menos 5 estándares de 0 a 3 ppm de cada metal para las curvas de calibración.

Durante años la quitina se ha preparado a partir de cáscaras de cangrejo y camarón obtenidas como subproductos en la industria de los mariscos. Sin embargo, en este experimento se decidió emplear pupario de moscas *Ceratitis capitata* porque la quitina es también un componente primario en las cutículas de los insectos; principalmente en las pupas de los insectos holometábolos. Las moscas en el último estadio larval se encierran dentro de su exoesqueleto formando un pupario que consiste en quitina unida covalentemente a los compuestos de catecol y a las proteínas similares a la esclerotina; la cual sirve de cubierta protectora (Majtán *et.al*, 2007). El período pupal de moscas *Ceratitis capitata* es de 9 a 11 días a 24.4 °C. Luego de este periodo la mosca emerge de la pupa, la cual es de color café en los machos y color gris blancuzco para las hembras, y son de forma cilíndrica (Figura 40 y 41) (Moscamed, 2017).

Los insectos poseen una enorme biodiversidad y representan el 95 % del reino animal (Labandeira y Sepkoski, 1993). Por lo tanto, son un recurso natural con alto potencial para la producción de quitina y quitosano industrial. Además, las cutículas de los insectos tienen niveles más bajos de material inorgánico (menos del 10 %) en comparación con las conchas de crustáceos (20 – 40 %), lo que hace su tratamiento de desmineralización más conveniente porque se utilizan condiciones ácidas moderadas en comparación a las empleadas para

crustáceos (Zhang et.al, 2000). Por estas razones se decidió emplear harina del desecho de pupario de moscas macho y hembra de una empresa de esterilización y producción de *Ceratitis capitata*.

Los complejos exoesqueléticos de quitina – proteína, principalmente en pupa, proporcionan protección contra las quitinasas y condiciones alcalinas suaves. Cuanto más fuertemente se une la proteína a la quitina, más difícil es penetrar el exoesqueleto con NaOH y separar la proteína de la quitina. El ácido benzoico es un compuesto de grado alimenticio, generalmente es empleado como suavizante, presenta acción bacteriostática, fungistática y es eficaz en la queratólisis del epitelio y suavización de la queratina (Rougier y Lotte, 1993). El acondicionamiento con este ácido permite que la solución de NaOH penetre y facilite la descomposición de los componentes proteicos. Entonces, este efecto y el efecto queratolítico aplicado en la estructura estratificada de proteínas, CaCO₃ y quitina del pupario de moscas, permitió que la desproteínización y desmineralización del biomaterial fuera más susceptible a condiciones de reacción menos extremas de lo usual: temperaturas inferiores a 40 °C y concentración de HCl y NaOH 1 M (Figuras 46 – 50).

Al lograr emplear temperaturas inferiores a 40 °C se evitan daños en las unidades acetiladas de la quitina, y por ende su calidad. Es importante mencionar que luego del tratamiento con ácido benzoico (Figura 31 y 32) las muestras de harina debían ser lavadas con agua destilada a 75 °C para eliminar los restos de este ácido y remanentes de proteínas solubles. La proteína eliminada puede convertirse en un subproducto de proteína aplicable como suplemento de proteína humana o de alimento. De no eliminarse el ácido benzoico, al ser un ácido orgánico, podía interferir en los análisis FT IR de las muestras finales de los biopolímeros sintetizados.

En los resultados reportados por Toan y colaboradores, extrayendo quitina del caparazón de camarones; se realizó una comparación entre el quitosano extraído con un acondicionamiento con ácido benzoico y el extraído por métodos convencionales. Reportaron resultados en donde el quitosano extraído por métodos convencionales (NaOH 2 M, HCl 2 M y temperaturas de 50 °C), presenta un contenido de proteína del 0.55 %. Por su parte, el quitosano extraído luego de un acondicionamiento con ácido benzoico presenta un contenido de proteína del 0.40 %. Por lo que concluyen que el ácido benzoico permite que la solución de NaOH penetre y facilite la degradación de los componentes proteicos en el caparazón de camarones (Toan *et.al*, 2006).

Entonces, puede que el tratamiento con ácido benzoico cause una estructura más floja de complejos quitina – proteína – calcio en el pupario de moscas, dando como resultado la

liberación de componentes no quitina y una mejor accesibilidad para la acción del HCl y NaOH. El acondicionamiento con ácido benzoico 0.02 M ayuda a reducir el tratamiento químico subsiguiente y minimiza la necesidad de productos químicos. De esta manera, el quitosano se puede producir a un coste más bajo y de una manera más consistente con el medio ambiente.

Las quitinas extraídas del pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho (Figura 51 y 52) presentan diferencias cualitativas. La quitina de moscas hembra presentó un color gris levemente amarillento, mientras que la quitina extraída de moscas macho fue de color café amarillento. Esta diferencia se debe a los distintos carotenoides presentes en la pupa de las moscas hembra y macho; los cuales les dan sus colores característicos. En esta experimentación no se realizó una decoloración de las quitinas porque se realizó un proceso de purificación, utilizando una solución de NaOH al 3.5 %; con el fin de obtener una quitina completamente libre de residuos de carbonato de calcio.

Luego del proceso de purificación, se observa que la apariencia de las quitinas cambia y se nota que ambas presentan un color blancuzco igual al reportado por la literatura (Sierra *et.al*, 2013). Es importante mencionar que las quitinas extraídas presentaron apariencia cristalina, esto se observa en las Figuras 51 y 52 en la sección de anexos. Se recomienda determinar la cristalinidad de las quitinas por medio de Difracción de Rayos X. Sierra y colaboradores, luego de extraer quitina del caparazón de crustáceos, confirmaron que la cristalinidad de la quitina es debido a su estructura molecular rígida y alto peso molecular (Sierra *et.al*, 2013).

Los espectros FT IR de las quitinas extraídas del pupario de moscas hembras y macho *Ceratitis capitata* (Figura 17 y 18) muestran tres señales características de las amidas presentes en la estructura de las quitinas. La señal del grupo C = O de las amidas I, las bandas de enlaces N – H de amidas II, y las vibraciones del enlace C – N de las amidas III. Estudios previos de quitina comercial y quitina extraída del caparazón de camarones, reportan que los espectros de las quitinas se caracterizan por estas tres bandas (Kaya *et.al*, 2014). Basándose en modos de vibración de las amidas I y demás grupos funcionales, la quitina de pupario de moscas hembra y macho es comparable a los modos de vibración de la α -quitina (Rumengan *et.al*, 2014). Es decir que tiene una estructura de cadenas antiparalelas (Focher *et.al*, 1992). Se lograron identificar los grupos funcionales característicos de la quitina en ambos espectros, concluyendo que la extracción de quitina fue exitosa.

La quitina está compuesta de 2 – acetamida – 2 – desoxi – D – glucosa (N – acetilglucosamina), mientras que el quitosano es una forma acetyl de quitina; y está compuesto

principalmente de glucosamina, 2 – amino – 2 – desoxi – D – glucosa (Sanford, 1988). La diferencia marcada entre los espectros FT IR de quitina y de quitosano (Figuras 19 – 22) en el intervalo de $3449 - 3275 \text{ cm}^{-1}$ está relacionada con la cantidad de grupos NH y OH en el quitosano. Por su parte, la mayor absorción en las quitinas a 2918 cm^{-1} es la consecuencia de una mayor cantidad de enlaces CH. Los espectros FT IR de los quitosanos, no mostraron bandas de amida I a $1670 - 1700 \text{ cm}^{-1}$ del grupo C = O; sino que mostraron señales características de grupos hidroxilo y amino.

Se confirmó que la síntesis de quitosanos a partir de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho fue exitosa; los productos finales fueron de apariencia blanca amarillenta (Figura 53 y 54). Los espectros FT IR de los quitosanos (Figuras 19 – 21) indican que se logró hidrolizar los grupos acetoamida de la quitina hasta grupos amino, que es el grupo característico del quitosano. Para este proceso fue necesario emplear una solución de NaOH 13 M a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ por 20 horas. Estas condiciones fueron indispensables debido a la baja reactividad que presenta la quitina. Lo anterior debido a los puentes de hidrógeno entre los grupos carbonilo y amida de las cadenas adyacentes del monómero; y por la compactación de las cadenas en la estructura cristalina de la quitina (Goycoolea *et.al*, 2004). De lo contrario, se hubiese dificultado el acceso del álcali a los sitios reactivos de la molécula.

Las bandas de los espectros de las quitinas y quitosanos (Figuras 19 – 22) son grandes debido a la naturaleza macromolecular de los biopolímeros y por los numerosos enlaces intermoleculares de hidrógeno. Es importante mencionar que el espectro de la Figura 20 presenta ruido, pues puede que se haya utilizado mayor cantidad de muestra de quitosano extraído de macho para preparar la pastilla de KBr. Lo anterior pudo provocar que las señales en dicho espectro fuesen más intensas y poco claras. El ruido electrónico también pudo causar interferencias en los espectros reportados.

Como se logró observar en las Figuras 19 – 22, los espectros infrarrojos de los quitosanos producidos en esta experimentación están en acuerdo con el resultado del quitosano comercial de camarón. Sin embargo, para el espectro del quitosano purificado y el quitosano comercial, se nota una diferencia en la definición y ancho de banda. Esto es el resultado de que el quitosano purificado formó un gel luego de 5 días de almacenamiento a temperatura ambiente y; no se realizó una correcta y completa eliminación de los restos de NaOH generando un medio alcalino. Esto es evidente en la banda alrededor de $3500 - 3000 \text{ cm}^{-1}$, donde se observa como una sola banda ancha debido a que los grupos OH del hidróxido de sodio opacaron las señales de los grupos NH de las aminas del quitosano. Se recomienda que luego de purificar el quitosano por medio de recristalización en medio alcalino, este se lave con agua a pH 7 previo a secarse en el horno.

El grado de desacetilación consiste en el porcentaje de grupos amino libres en el quitosano. En consecuencia, está asociada con el progresivo debilitamiento de las bandas correspondientes a los grupos NH (3269 cm⁻¹), los enlaces N-H de la amida secundaria (1561 cm⁻¹), la banda de la amida terciaria (1381 cm⁻¹) y los enlaces C=O de la amida primaria (1630 cm⁻¹). La banda de absorción del grupo amida primaria prevalece sobre los grupos de amida secundaria, por la pérdida del grupo acetilo de los grupos amida del carbono 2; dando lugar a un grupo amino en esa posición, ya que los grupos acetilo se hidrolizan en medio básico. En el Cuadro 10 se muestra que para las quitinas extraídas de pupario de moscas hembra y macho, el porcentaje de desacetilación es del 22.59 % y 16.70 % respectivamente. Al ser porcentajes mayores al 10 %, las unidades desacetiladas predominan en la estructura de las quitinas y, por lo tanto, son de baja calidad. El grado de desacetilación depende del procedimiento, materia prima y purificación. Como las quitinas si fueron purificadas, el factor que influyó en la calidad fueron las condiciones de reacción.

Goycoolea y colaboradores, luego de una serie de experimentos determinaron que, cuando los procesos de desproteización y desmineralización se llevan a cabo por un período de tiempo prolongado (mayor a 10 y 4 horas respectivamente), se suele presentar depolimerización y desacetilación de la quitina (Goycoolea *et.al.*, 2004). Se debe considerar que el pupario de moscas hembra y macho empleado en esta experimentación, había sido precondicionado con ácido benzóico. Entonces, se recomienda que para la desmineralización el tiempo de reacción sea de 4 horas y para la desproteización sea un tiempo entre 8 y 10 horas; con agitación constante y a temperatura ambiente para ambos procesos.

Para los quitosanos de hembra y macho, se reportan porcentajes de desacetilación del 87.32% y 86.65 % respectivamente. Estos valores se asemejan a los reportados por Kim y colaboradores, quienes reportaron un porcentaje de desacetilación para el quitosano extraído del pupario de mosca común *M. domestica* del 89.7 % (Kim *et.al.*, 2016). Entonces, los porcentajes de desacetilación reportados en esta experimentación, al ser mayores al 85 %, indican que se obtuvieron quitosanos de alta calidad. Existe una diferencia en la calidad de los biopolímeros según el sexo de las moscas. A pesar de ser una diferencia del 0.67 %, esta puede ser el resultado del distinto contenido de carbohidratos, grasas y cenizas presente en el pupario de moscas hembra y macho (Cuadro 8). Se recomienda hacer un análisis detallado de la composición del pupario de moscas según su sexo y cómo cada componente afecta la calidad del producto final.

La solubilidad del quitosano se da por la protonación de los grupos amino libres a lo largo de la cadena del biopolímero, generando la correspondiente sal de quitosano en solución. Entonces, las cargas positivas presentes a lo largo de la molécula pueden determinar el comportamiento del quitosano en solución. En consecuencia, el grado de desacetilación determina la solubilidad del quitosano. A pesar de obtener porcentajes de desacetilación para los quitosanos extraídos de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho, mayores al 85 %, los quitosanos presentaron baja solubilidad en ácido acético al 2.5% (v/v). En consecuencia, purificar el quitosano extraído del pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho es necesario para lograr una solubilidad en ácidos orgánicos.

Se observó que los residuos de la purificación eran restos de proteínas y material orgánico que interferían en la solubilidad del quitosano. Luego de su purificación presentó mayor solubilidad en ácido acético al 2.5 % (v/v) que el quitosano sin purificar. En el Cuadro 11 se observan los resultados de las pruebas de solubilidad del quitosano purificado extraído del pupario de moscas macho. Se determinó que la muestra purificada es parcialmente soluble en pH 5 y soluble a pH 6. Se observaron precipitados al intentar solubilizar el quitosano en pH 7 y fue totalmente insoluble a pH 1, 10 y 14. Por tanto, el quitosano purificado extraído de moscas *Ceratitis capitata* es soluble en soluciones de ácidos orgánicos a pH 6.

Cada pico cristalino en los patrones de difracción de las Figuras 25 – 29, caracteriza la estructura cristalográfica, que se genera a partir de alineaciones paralelas y antiparalelas de cadenas u hojas poliméricas. Ambos biopolímeros tienen regiones amorfas y cristalinas (Jung, 2013). El patrón de difracción de la quitina extraída del pupario de moscas hembra (Figura 25) presenta tendencia amorfa cerca de $5 - 10^\circ$. Por su parte, la quitina de macho muestra mayor nitidez en las bandas sugiriendo mayor cristalinidad. Por su parte, para los quitosanos, se nota que el pico a 9.5° para el extraído de moscas macho muestra más nitidez que el pico en 9.2° del extraído de moscas hembra (Figura 27 y 28). En consecuencia, los biopolímeros del pupario de moscas macho, presentan mayor naturaleza cristalina que los de hembra.

La cristalinidad de la quitina y el quitosano se genera a partir del enlace hidrógeno entre los correspondientes grupos hidroxilo y N-acetilo (Bartnicki-Garcia, 1988). Se debe observar que la cristalinidad de las muestras depende de muchos factores como la naturaleza del organismo del cual se extrajo la quitina y de las condiciones empleadas en la extracción del biopolímero. Además, los polimorfos de la quitina conducen a una menor cristalinidad del quitosano, así como los pasos de los tratamientos químicos realizados para la extracción del quitosano a partir de la quitina.

Para la muestra de quitosano extraído del pupario de moscas macho purificada, se observa que los picos son más definidos, aumenta la intensidad del pico en 9.2° y aparecen señales a 17.9 , 26.7 y 35.7° . Resultados similares fueron propuestos por Prashant y Tharanathan (2005), quienes realizaron una depolimerización del quitosano comercial de camarón. Puede que luego de la purificación, por efectos de la alcalinidad, se haya depolimerizado parte de la cadena de este polisacárido. Es importante mencionar que al momento de realizar los análisis en el equipo de difracción de rayos X el quitosano se encontraba en forma de gel y en medio alcalino. El estado de la muestra y su alcalinidad afectan significativamente los resultados del análisis de difracción.

Las curvas TGA y DTG para los quitosanos extraídos de pupario de moscas macho y hembra presentan una primera descomposición a $85 - 90^\circ\text{C}$, que corresponden a una pérdida en masa de 5.67% y 5.10% respectivamente. Esta es una pérdida por la evaporación del agua presente en la estructura de la molécula de quitosano. La segunda etapa y la más significativa tanto para la muestra de quitosano de hembra como de macho es a 373.39°C y 368.75°C respectivamente; con una pérdida de masa de 60.29% para el quitosano de macho y 60.11% para el quitosano de hembra. Esta pérdida de masa es por la degradación de los sacáridos en la estructura molecular y procesos complejos de depolimerización, y descomposición de las unidades acetiladas y desacetiladas de los quitosanos.

Las temperaturas de descomposición para los quitosanos están por encima de lo reportado por MiAo y Wu, para el quitosano extraído de mosca doméstica donde la temperatura fue de $270 - 320^\circ\text{C}$ (MiAo y Wu, 2011). En consecuencia, el quitosano extraído del pupario de moscas hembra y macho *Ceratitis capitata* presenta mayor estabilidad térmica porque se descompone a temperaturas mayores que el extraído de *M. domestica*. Además, el quitosano analizado no estaba purificado; por lo que había restos de proteínas y material orgánico que interfirió y causó que la descomposición se diera a mayor temperatura.

El porcentaje residual de masa obtenido después de llevar los biopolímeros extraídos hasta 600°C es del 34.64% para el quitosano extraído del pupario de moscas macho y del 34.79% para el extraído de hembras. Estos porcentajes dependen del origen, propiedades y condiciones de obtención de la quitina y del quitosano; ya que, para la alta concentración de la solución de NaOH utilizada (13 M), la viscosidad se incrementa y sumado a esto, las características estructurales de ambos biopolímeros facilitan la retención de impurezas y generan mayores productos de ignición a temperaturas mayores a 600°C , tal como lo establecen Hernández y colaboradores (Hernández *et.al*, 2009).

Los carboximetilquitosanos (CMC) sintetizados son sólidos cristalinos de color blanco (Figura 55 y 56). Las condiciones de reacción determinan la posición en la cual se realizará la carboximetilación. En esta experimentación se realizó la alquilación directa del quitosano con ácido cloroacético en medio básico. Song y colaboradores confirman que el hidróxido de sodio da lugar a que la alquilación suceda en las aminas primarias; dando lugar a la formación del N – CMC. Sin embargo, las condiciones fuertemente básicas conducen a una baja selectividad de reacción (Song *et.al*, 2011).

Específicamente, la reactividad de los grupos OH es superior a los grupos NH₂, por lo tanto, el producto de carboximetilación en medio básico es una mezcla de derivados N, O – CMC con sustitución en los grupos OH del carbono 6 y carbono 3, y también algunas sustituciones en los grupos NH₂. Chen y Park señalan que los grupos carboximetilo se introducen principalmente sobre los grupos OH con una pequeña cantidad en los grupos NH₂ (Chen y Park, 2003).

Song y colaboradores determinaron que la cantidad de ácido cloroacético afecta significativamente la síntesis de CMC. Luego de una serie de experimentos, identificaron que el grado de sustitución aumenta con la cantidad de ácido cloroacético. Al mismo tiempo, el aumento del tiempo de reacción puede conducir a un grado de sustitución más alto, pero cuando el tiempo excede 4 h, el grado de sustitución aumenta lentamente y el producto se convierte amarillo (Song *et.al*, 2011). En consecuencia, se recomienda hacer la síntesis de N, O – CMC a partir de quitosano extraído de pupario de moscas *Ceratitis capitata* con las condiciones de reacción: relación de masa de NaOH a quitosano 1:1, relación de masa ácido cloroacético a quitosano 5:1, temperatura de reacción 70°C, y tiempo de reacción 4 h.

Se determinó que los N, O – CMC sintetizados a partir de quitosanos extraídos del pupario de moscas macho y hembra fueron solubles en agua destilada a pH 7 hasta 0.85g/10mL de agua y 0.80g/10mL de agua, respectivamente. Al exceder estas cantidades de N, O – CMC en el agua, se observaban precipitados en la solución. Estos resultados están en acuerdo con lo reportado por Song y colaboradores, donde reportan una solubilidad de 0.83 g /10 mL (Song *et.al*, 2011). Comparado con el quitosano, la solubilidad del N, O – CMC en soluciones acuosas se mejora notablemente debido a la introducción del grupo carboximetilo. Se concluye que el factor clave para la producción de N, O – CMC soluble en agua a partir del quitosano extraído del pupario de moscas *Ceratitis capitata* es la relación molar entre el ácido cloroacético y el quitosano. Se recomienda hacer un análisis de la solubilidad de los carboximetilquitosanos a diferentes pH's.

La síntesis de los carboximetilquitosanos (N, O – CMC) extraídos del pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho se confirmaron a través de los espectros infrarrojos que se muestran en las Figuras 23 y 24, respectivamente. Después de la carboximetilación aparecieron bandas alrededor de $1686 - 1685 \text{ cm}^{-1}$, estas se atribuyen a la presencia del grupo $-\text{COONa}$. Estos resultados son similares a los reportados por Kalliola y colaboradores, donde identifican una banda a 1600 cm^{-1} que se debe al solapamiento del $-\text{COONa}$ y la señal del $-\text{NH}_2$ (Kalliola *et.al*, 2017). La banda del grupo carbonilo aparecería alrededor de 1720 cm^{-1} , pero esta señal no fue detectada. En consecuencia, se confirma que los productos se encuentran en forma de sal sódica. Es válido mencionar que los espectros de las Figuras 23 y 24 presentan interferencias de ruido electrónico debido a que el equipo empleado no es capaz de realizar la transformada de Fourier.

Las nanopartículas de CMC – Ca fueron sintetizadas por reticulación iónica. Las fuerzas que contribuyen a la formación y estabilidad de las nanopartículas son la interacción entre los grupos amida y carbonilo, la interacción entre los grupos carboxilo, y los iones Ca^{2+} y las interacciones hidrofóbicas. Previo a la síntesis de las nanopartículas fue necesario ajustar el pH de la solución de los carboximetilquitosanos, tanto del extraído de pupario de moscas hembra como el de macho. Se ajustó a un pH 7 ya que Kalliola y colaboradores han reportado que las nanopartículas a este pH son más estables y se alcanzan tamaños de hasta 200 nm (Kalliola, 2017).

La concentración de CMC y cloruro de calcio afecta la formación de las nanopartículas. Al aumentar la concentración de carboximetilquitosanos, aumenta la concentración de iones Ca^{2+} necesarios para formar las nanopartículas (Shi *et.al*, 2006). Shi y colaboradores determinaron que a menor concentración de carboximetilquitosano se obtienen menores tamaños de nanopartículas (Shi *et.al*, 2006). Calvo y colaboradores determinaron una tendencia similar al sintetizar nanopartículas de quitosano con TPP (Calvo *et.al*, 1997). Se recomienda disminuir la cantidad del agente reticulante CaCl_2 para la síntesis de nanopartículas de CMC – Ca.

Generalmente las nanopartículas de quitosano se preparan en una solución de ácido acético al 1 % (v/v). Sin embargo, como el quitosano presentó baja solubilidad en este ácido orgánico debido al porcentaje de desacetilación, se utilizó una solución de ácido clorhídrico al 1 % (v/v). Para asegurar la completa disolución del quitosano se soniqueó la solución por 30 min y se calentó a $35 \text{ }^\circ\text{C}$. Sin embargo, Nasti y colaboradores, indican que se debe soniquear al menos durante 40 min para lograr la disolución del quitosano y luego calentar para eliminar residuos de proteínas que interfieran en su disolución. Por lo tanto, se recomienda purificar el quitosano extraído para asegurar la eliminación de contaminantes proteícos. Se pueden emplear técnicas

de precipitación - redisolución. Asimismo, luego de agregar la solución de TPP se debe agitar por 30 min y, por último, volver a soniquear por 40 min (Nasti *et.al*, 2009).

Se debe considerar que la relación de TPP y quitosano afecta la formación de nanopartículas. En las investigaciones de Nasti y colaboradores, se emplearon soluciones altamente diluidas de quitosano y TPP, 0.035% y 0.0017% respectivamente; con el propósito de evitar la formación de agregados. Asimismo, se determinó que el pH de las soluciones de quitosano y TPP afectan la formación de nanopartículas. Se recomienda tener el mismo pH en ambas soluciones y que este sea entre 4.5 - 5, de este modo se evita la agregación de quitosano y se logran obtener nanopartículas con tamaño promedio de 240 nm (Nasti *et.al*, 2009). En consecuencia, la técnica empleada en esta experimentación para la síntesis de nanopartículas de quitosano pudo afectar el tamaño y propiedades de las mismas.

La absorbancia a 550 nm en los Cuadros 12 – 14, tanto para la muestra de agua AF y DF, disminuyen al aumentar la concentración de nanopartículas presentes en las muestras de agua. Por lo tanto, se confirmó que las nanopartículas de CS M, CMC – Ca M, y CMC – Ca H, fueron capaces de remover el pigmento fluorescente de las muestras de agua residual. Asimismo, se evidenció que las muestras de agua AF presentaron mayor absorbancia que las muestras de agua DF. Lo anterior indica que el proceso de filtración realizado en la planta de tratamiento actual disminuye la concentración del pigmento fluorescente presente en el agua residual. Se puede observar que las absorbancias reportadas al usar nanopartículas de quitosano son mayores a las absorbancias reportadas para las nanopartículas de carboximetilquitosano, tanto de hembra (CMC – Ca H) como de macho (CMC – Ca M). Las nanopartículas de CSM remueven menor concentración del pigmento fluorescente presente en las muestras de agua AF y DF.

Como se puede observar en los Cuadros 15 y 16, se comprobó la hipótesis porque las nanopartículas de carboximetilquitosano, extraídas de moscas *Ceratitis capitata* macho y hembra, presentan mayores porcentajes de remoción en comparación a los reportados para las nanopartículas de quitosano. Específicamente, las nanopartículas de CMC – Ca extraídas del pupario de moscas hembra presenta los mejores resultados, logrando un porcentaje de remoción del 67.47% para las muestras de agua residual AF y del 62.00 % para las muestras de agua residual DF. Mientras que las nanopartículas de quitosano presentan un porcentaje de remoción del 38.18% y 43.20% para las muestras de agua AF y DF respectivamente.

Se identificó que existe una diferencia respecto a la capacidad de remoción del pigmento según el sexo de la mosca, de modo que se recomienda hacer un análisis elemental para determinar si la cantidad del contenido total de carbono, hidrógeno o nitrógeno afecta las

propiedades de las nanopartículas. Asimismo, es válido mencionar que se obtuvieron patrones de difracción diferentes según el sexo de la mosca; determinando que la quitina de hembra presenta mayor comportamiento amorfo. La morfología del material adsorbente interviene en la capacidad adsorbente del mismo, pues afecta directamente el área superficial y sitios activos disponibles para el proceso de adsorción. Por tanto, se recomienda realizar un estudio sobre la morfología y topografía de las nanopartículas de quitosano y carboximetilquitosano, tanto de hembra como de macho.

El porcentaje de remoción reportado para las nanopartículas de CMC – Ca evidencia que la presencia del grupo CH_2COOH sobre el átomo de nitrógeno de la unidad de glucosamina del quitosano hace que se forme una estructura similar a la glicina; y los pares solitarios de la secuencia NCCO de glicina contribuyen a propiedades superiores de quelación y adsorción (Mourya *et.al*, 210). Lo anterior lo confirman estudios realizados por Mourya y colaboradores donde se afirma que estas altas capacidades de absorción para iones metálicos y materiales orgánicos pueden ser de gran uso para la recuperación de metales valiosos o el tratamiento de efluentes contaminados (Mourya *et.al*, 210).

En los gráficos de las Figuras 32 y 33 se confirma que las nanopartículas de carboximetilquitosano extraídas de moscas hembra (CMC – Ca H) presentan los mejores resultados de remoción para el pigmento Fire Orange, en comparación a las nanopartículas de CMC – Ca M y CS M. En la Figura 33 se observa que no existe un cambio significativo en el porcentaje de remoción al agregar 33 y 60 mg/0.5 L de nanopartículas de quitosano y CMC – Ca extraído del pupario de moscas macho. Puede que la solución ya se haya encontrado saturada y, en consecuencia, no se presentara un cambio significativo. Lo mismo ocurre con las nanopartículas de CMC – Ca extraídas del pupario de moscas hembra al aplicarse a las muestras de agua AF (Figura 32).

En este trabajo se logró extraer por primera vez quitosano a partir de moscas *Ceratitis capitata* macho y hembra. Se demostró que las nanopartículas carboximetilquitosano – Ca son útiles como adsorbentes en el tratamiento de aguas residuales. Sin embargo, aún quedan varios parámetros por investigar respecto a esta extracción. Específicamente las condiciones óptimas de temperatura y concentraciones de NaOH y HCl para las reacciones de desmineralización, desproteización y desacetilación. Las nanopartículas de quitosano con Fe_3O_4 podrían desarrollarse como un adsorbente económico para tratar aguas residuales con pigmentos y ser recuperadas convenientemente. Es necesario estudiar la degradación enzimática, con proteasas, del quitosano; de modo que el pigmento pueda ser recapturado y reutilizado. En consecuencia, se podrían ampliar las aplicaciones del quitosano extraído de moscas *Ceratitis capitata*.

VIII. CONCLUSIONES

1. Se comprobó que el acondicionamiento de harina del pupario de moscas *Ceratitis capitata* con ácido benzoico 0.02 M contribuye a reducir el tratamiento químico subsiguiente y minimiza la necesidad de productos químicos. De esta manera, el quitosano se puede producir a un costo más bajo y de una manera más consistente con el medio ambiente.
2. Se logró extraer α - quitina de la harina de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho con porcentajes de desacetilación del 22.59 % y 16.70 % respectivamente.
3. Se obtuvo quitosano del pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho con porcentajes de desacetilación del 86.65 % y 87.32 % respectivamente.
4. Para que el quitosano extraído de moscas *Ceratitis capitata* sea soluble en ácidos orgánicos a pH 6 es necesario purificarlo y obtener porcentajes de desacetilación igual o mayores al 85 %.
5. Se obtuvieron patrones de difracción de rayos X diferentes para cada biopolímero, determinando que las quitinas presentan mayor estructura cristalina que los quitosanos y; los biopolímeros extraídos del pupario de moscas macho presentan mayor naturaleza cristalina que los de hembra.
6. Se logró sintetizar N, O – carboximetilquitosano, soluble en agua destilada a pH neutro, a partir del pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho por medio de alquilación directa utilizando ácido cloroacético en medio básico.
7. Se demostró que las nanopartículas de carboximetilquitosano – Ca extraídas del pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra logran remover hasta un 67.47 % del pigmento fluorescente Fire Orange presente en aguas residuales.

IX. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda que para la desmineralización del pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra y macho el tiempo de reacción sea de 4 horas y para la desproteínización sea un tiempo entre 8 y 10 horas. De modo que se evite la depolimerización y desacetilación de la quitina.
2. Se recomienda hacer un análisis detallado de la composición del pupario de moscas según su sexo y cómo cada componente afecta la calidad del producto final.
3. Se recomienda considerar el estudio y manejo de las proteínas aisladas luego de la desproteínización de la harina de pupario de moscas *Ceratitis capitata*.
4. Se recomienda determinar las condiciones óptimas de temperatura y concentraciones de NaOH y HCl para las reacciones de desmineralización, desproteínización y desacetilación.
5. Se recomienda realizar la purificación de los quitosanos extraídos a través de procesos de disolución – recristalización; para asegurar la ausencia de proteínas que puedan interferir en las propiedades fisicoquímicas del quitosano como lo es su solubilidad.
6. Se recomienda realizar un estudio sobre la morfología y topografía de las nanopartículas de quitosano y carboximetilquitosano, tanto de hembra como de macho.
7. Se recomienda probar concentraciones mayores a 60mg/0.5L de nanopartículas de CMC – Ca extraídas del pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra; y determinar el porcentaje de remoción máximo para el pigmento Fire Orange presente en muestras de agua residual AF y DF.
8. Se recomienda investigar acerca de la síntesis de nanopartículas de quitosano magnéticas con Fe_3O_4 ; ya que estas podrían desarrollarse como un adsorbente económico y alternativo para tratar aguas residuales con pigmentos y ser recuperadas convenientemente.
9. Se recomienda estudiar la posible degradación enzimática, con proteasas, del quitosano utilizado para remoción del pigmento; de modo que el pigmento pueda ser recapturado y reutilizado.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Abram, A. P., y Higuera, I. (2004). *Generalidades en: QT y CS*. Pastor A., Pontificia Universidad Católica del Perú, Peru, 25.
- Aguilar, M. I., Lloréns, M., Soler, A. y Ortuño, J. F. (2002). *Tratamiento físico-químico de aguas residuales: coagulación-floculación*. (1a ed.). Murcia: Universidad de Murcia.
- Al-Manhel, A. J., Al-Hilphy, A. R. S., y Niamah, A. K. 2016. *Extraction of chitosan, characterisation and its use for water action*. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences.
- An, N. T., Dung, P. L., Thien, D. T., Dong, N. T., y Nhi, T. T. Y. (2008). *An improved method for synthesizing N, N'-dicarboxymethylchitosan*. Carbohydrate polymers, 73(2), 261-264.
- Anitha, A., Rani, V. D., Krishna, R., Sreeja, V., Selvamurugan, N., Nair, S. V.,... y Jayakumar, R. (2009). *Synthesis, characterization, cytotoxicity and antibacterial studies of chitosan, O-carboxymethyl and N, O-carboxymethyl chitosan nanoparticles*. Carbohydrate Polymers, 78(4), 672-677.
- Borsagli, M., Lima, F. G., Mansur, A. A., y Mansur, H. S. (2016). *Synthesis and Characterization of CMC for Potential Application as Adsorbent in Water Treatment*. In Materials Science Forum (Vol. 869, pp. 750-755). Trans Tech Publications.
- Caldera, Y., Clavel, N., Briceño, D., Nava, A., Gutiérrez, E., y Mármol, Z. (2009). *Quitosano como coagulante durante el tratamiento de aguas de producción de petróleo*. Boletín del Centro de Investigaciones biológicas, 43(4).
- Caldera, Y., Rodríguez, Y., Oñate, H., Prato, J., y Gutiérrez, E. (2013). *Eficiencia del quitosano como coagulante durante el tratamiento de aguas de baja turbidez asociadas a la producción de petróleo/Efficiency of chitosan as coagulant during treatment of low turbidity water associated crude oil production*. Revista Tecnocientífica URU, (1), 45-52.

- Calvo, P., Remunan- Lopez, C., Vila- Jato, J. L., & Alonso, M. J. (1997). *Novel hydrophilic chitosan- polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers*. Journal of Applied Polymer Science, 63(1), 125-132.
- Cartwright, P. E. (2009). *Tratamiento y Reuso del Agua en Aplicaciones Comerciales / Industriales*. Agua Latioamérica, 9 (1), 20-24.
- Cestari, A. R., Vieira, E. F., Dos Santos, A. G., Mota, J. A., y de Almeida, V. P. (2004). *Adsorption of anionic dyes on chitosan beads. 1. The influence of the chemical structures of dyes and temperature on the adsorption kinetics*. Journal of Colloid and Interface Science, 280(2), 380-386.
- Chen, L., Tian, Z., y Du, Y. (2004). *Synthesis and pH sensitivity of carboxymethyl chitosan-based polyampholyte hydrogels for protein carrier matrices*. Biomaterials, 25(17), 3725-3732.
- Chen, S. C., Wu, Y. C., Mi, F. L., Lin, Y. H., Yu, L. C., y Sung, H. W. (2004). *A novel pH-sensitive hydrogel composed of N, O-carboxymethyl chitosan and alginate cross-linked by genipin for protein drug delivery*. Journal of Controlled Release, 96(2), 285-300.
- Chen, X. G., y Park, H. J. (2003). *Chemical characteristics of O-carboxymethyl chitosans related to the preparation conditions*. Carbohydrate Polymers, 53(4), 35
- Chiou, M. S., Ho, P. Y., & Li, H. Y. (2004). *Adsorption of anionic dyes in acid solutions using chemically cross-linked chitosan beads*. Dyes and Pigments, 60(1), 69-84.
- Cho, Y. I., No, H. K., y Meyers, S. P. (1998). *Physicochemical characteristics and functional properties of various commercial chitin and chitosan products*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(9), 3839-3843.
- Chowdhury, S., Mazumder, M. J., Al-Attas, O., & Husain, T. (2016). *Heavy metals in drinking water: occurrences, implications, and future needs in developing countries*. Science of the total Environment, 569, 476-488.
- Dahmane, E. M., Taourirte, M., Eladlani, N., y Rhazi, M. (2014). *Extraction and characterization of chitin and chitosan from Parapanaeus longirostris from Moroccan local sources*. International Journal of Polymer Analysis and Characterization, 19(4), 342-351.

- Debrassi, A., Corr ea, A. F., Baccarin, T., Nedelko, N.,  lawska-Waniewska, A., Sobczak, K., ... y Rodrigues, C. A. (2012). *Removal of cationic dyes from aqueous solutions using N-benzyl-O-carboxymethylchitosan magnetic nanoparticles*. Chemical Engineering Journal, 183, 284-293.
- Dutta, P. K., Ravikumar, M. N. V., y Dutta, J. (2002). *Chitin and chitosan for versatile applications*. Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews, 42(3), 307-354.
- FAO. "Técnica De Esterilizaci n De Insectos." Técnica De Esterilización De Insectos. (1998). Web. 11 Oct. 2016.
- Franco, F. L. (2014). *Acueductos y Alcantarillados*. Manizales: Universidad Nacional de Colombia.
- Focher, B., Naggi, A., Torri, G., Cosani, A., & Terbojevich, M. (1992). *Structural differences between chitin polymorphs and their precipitates from solutions—evidence from CP-MAS 13C-NMR, FT-IR and FT-Raman spectroscopy*. Carbohydrate Polymers, 17(2), 97-102.
- García Castillo, L. G. (2013). *Quitosano: una revisión de sus aplicaciones en la actualidad*.
- Ge, H. C., y Luo, D. K. (2005). *Preparation of carboxymethyl chitosan in aqueous solution under microwave irradiation*. Carbohydrate research, 340(7), 1351-1356.
- Gehrke, I., Geiser, A., y Somborn-Schulz, A. (2015). *Innovations in nanotechnology for water treatment*. Nanotechnology, science and applications, 8, 1.
- Gobierno de Guatemala, Segeplan. 2012. *Política Nacional del sector de agua potable y saneamiento*. http://www.segeplan.gob.gt/downloads/clearinghouse/politicas_publicas/Salud/Politica_Nacional_del_Sector_de_Agua_Potable_y_Saneamient.pdf
- Goycoolea, F. (2009). *Nanop rticulas a base de polisacáridos: quitosano*. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia.

- Guibal, E. (2004). *Interactions of metal ions with chitosan-based sorbents: a review*. Separation and purification technology, 38(1), 43-74.
- Guibal, E., Touraud, E., y Roussy, J. (2005). *Chitosan interactions with metal ions and dyes: dissolved-state vs. solid-state application*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 21(6), 913-920.
- Gupta, O Moradi, I Tyagi, S Agarwal, H Sadegh, R Shahryari-Ghoshekandi, ASH Makhlof, M Goodarzi, and A Garshasbi. (2016) *Study on the removal of heavy metal ions from industry waste by carbon nanotubes: effect of the surface modification: a review*. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 46(2):93–118.
- Hendricks, D. W. (2006). *Water treatment unit processes: physical and chemical*. CRC press.
- H. Hernández, E. Águila, O. Flores, E. Viveros y E. Ramos. (2009). “*Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón*”. Superficies y Vacío. 22, 57-60.
- Hjerde, R. J. N., Vårum, K. M., Grasdalen, H., Tokura, S., y Smidsrød, O. (1997). *Chemical composition of O-(carboxymethyl)-chitins in relation to lysozyme degradation rates*. Carbohydrate Polymers, 34(3), 131-139.
- Joshi, N., Saha, R., Shanmugam, T., Balakrishnan, B., More, P., y Banerjee, R. (2013). *Carboxymethyl-chitosan-tethered lipid vesicles: hybrid nanoblanket for oral delivery of paclitaxel*. Biomacromolecules, 14(7), 2272-2282.
- Kalliola, S., Repo, E., Srivastava, V., Heiskanen, J. P., Sirviö, J. A., Liimatainen, H., & Sillanpää, M. (2017). *The pH sensitive properties of carboxymethyl chitosan nanoparticles cross-linked with calcium ions*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 153, 229-236.
- Kalliola, S., Repo, E., Sillanpää, M., Arora, J. S., He, J., y John, V. T. (2016). *The stability of green nanoparticles in increased pH and salinity for applications in oil spill-treatment*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 493, 99-107.
- Kaya, M., Baran, T., Saman, I., Ozusaglam, M. A., Cakmak, Y. S., y Menteş, A. (2014). *Physicochemical characterization of chitin and chitosan obtained from resting eggs of*

- Ceriodaphnia quadrangula* (Branchiopoda: Cladocera: Daphniidae). *Journal of Crustacean Biology*, 34(2), 283-288.
- Khan, T. A., Peh, K. K., y Ch'ng, H. S. (2000). *Mechanical, bioadhesive strength and biological evaluations of chitosan films for wound dressing*. *J Pharm Pharm Sci*, 3(3), 303-311.
- Kim, C. H., y Choi, K. S. (1998). *Synthesis and properties of carboxyalkyl chitosan derivatives*. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 4(1), 19-25.
- Kim, M. W., Han, Y. S., Jo, Y. H., Choi, M. H., Kang, S. H., Kim, S. A., & Jung, W. J. (2016). *Extraction of chitin and chitosan from housefly, Musca domestica, pupa shells*. *Entomological Research*, 46(5), 324-328.
- Krajewska, B. (2001). *Diffusion of metal ions through gel chitosan membranes*. *Reactive and Functional Polymers*, 47(1), 37-47.
- Krishnaveni, B., & Rangunathan, R. (2015). *Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from F. solani* CBNR BKRR, Synthesis of their Bionanocomposites and Study of their Productive Application.
- Kumirska, J., M. Czerwicka, Z. Kaczyński, A. Bychowska, K. Brzozowski, J. Thöming and P. Stepnowski, (2010). *Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan*. *Mar. Drugs*, 8: 1567-1636.
- Kusuma, H. P., Agasi, H., y Darmokoesoemo, H. (2015). *Effectiveness Inhibition of Fermentation Legen using Chitosan Nanoparticles*. *J Mol Genet Med*, 9(173), 1747-0862.
- Labandeira, C. C., & Sepkoski, J. J. (1993). *Insect diversity in the fossil record*. *Science (Washington)*, 261(5119), 310-315.
- Majtán, J., Bíliková, K., Markovič, O., Gróf, J., Kogan, G., & Šimúth, J. (2007). *Isolation and characterization of chitin from bumblebee (Bombus terrestris)*. *International journal of biological macromolecules*, 40(3), 237-241.
- Lane, Russell W. (1995). *Control de incrustaciones y corrosión en instalaciones hidráulicas de edificios*. Ed. Mc Graw-Hill México, D.F.

- M. Yen, J. Yang and J. Mau. "Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells". *Carbohydrate Polymers*, 75, 15–21, 2009.
- Mourya, V. K., Inamdar, N. N., y Tiwari, A. (2010). *Carboxymethyl chitosan and its applications*. *Adv Mat Lett*, 1(1), 11-33.
- MiAo, L., & Wu, Y. J. (2011). *Preparation and characterisation of food-grade chitosan from housefly larvae*. *Czech J Food Sci*, 29 (6), 616-623.
- Mouzdahir, Y., Elmchaouri, A., Mahboub, R., Gil, A., & Korili, S. A. (2010). *Equilibrium modeling for the adsorption of methylene blue from aqueous solutions on activated clay minerals*. *Desalination*, 250(1), 335-338.
- Murray, M. L., Villoslada, I., Donoso, S. L., Ampuero, F., Villa, M. A., Fonseca, A. G., ... y Rivas, S. P. (2013). *Biomaterial que comprende quitosano y al menos glicosaminoglicano*. Patente con Número de Aplicación PCT/CL2012/000023.
- Muzzarelli, R. A. (1973). *Natural chelating polymers; alginic acid, chitin and chitosan*. In *Natural chelating polymers; alginic acid, chitin and chitosan*. Pergamon Press.
- Muzzarelli, R. A. (1988). *Carboxymethylated chitins and chitosans*. *Carbohydrate polymers*, 8(1), 1-21.
- Muzzarelli, R. A. (2013). *Chitin*. Elsevier.
- Muzzarelli, R. A., Tanfani, F., Emanuelli, M., y Mariotti, S. (1982). *N-(carboxymethylidene) chitosans and N-(carboxymethyl) chitosans: novel chelating polyampholytes obtained from chitosan glyoxylate*. *Carbohydrate Research*, 107(2), 199-214.
- Nasti, A., Zaki, N. M., de Leonardis, P., Ungphaiboon, S., Sansongsak, P., Rimoli, M. G., & Tirelli, N. (2009). *Chitosan/TPP and chitosan/TPP-hyaluronic acid nanoparticles: systematic optimisation of the preparative process and preliminary biological evaluation*. *Pharmaceutical research*, 26(8), 1918-1930.
- Nishimura, S. I., Ikeuchi, Y., y Tokura, S. (1984). *The adsorption of bovine blood proteins onto the surface of O-(carboxymethyl) chitin*. *Carbohydrate research*, 134(2), 305-312.

- Ngah, W. W., Teong, L. C., & Hanafiah, M. A. K. M. (2011). *Adsorption of dyes and heavy metal ions by chitosan composites: A review*. Carbohydrate Polymers, 83(4), 1446-1456.
- No, H. K., Park, N. Y., Lee, S. H., y Meyers, S. P. (2002). *Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights*. International journal of food microbiology, 74(1), 65-72.
- Orozco, A. (2005). *Bioingeniería de Aguas Residuales*. Bogotá: Acodal.
- Poole, C. P., y Owens, F. J. (2007). *Introducción a la nanotecnología*. Reverté.
- Prashanth, K. H., y Tharanathan, R. N. (2007). *Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential—an overview*. Trends in food science y technology, 18(3), 117-131.
- Prashant, H.K.V. and R.N. Tharanathan, (2005). *Depolymerized products of chitosan as potent inhibitors of tumor-induced angiogenesis*. Biochem. Biophys. Acta, 1722: 22-29
- Rinaudo, M., Le Dung, P., Gey, C., y Milas, M. (1992). *Substituent distribution on O, N-carboxymethylchitosans by 1H and 13C NMR*. International journal of biological macromolecules, 14(3), 122-128.
- Ríos, N., Navarro, R., Ávila, M., y Mendizábal, E. (2006). *Obtención de sulfato de CS y su aplicación en el proceso de coagulación-floculación de suspensiones coloidales aniónicas de caolinita*. Iberoamericana de Polímeros, 7(3), 145-161.
- Robinson, A. S., Cirio, U., Hooper, G. H. S., & Capparella, M. (1986). *Field cage studies with a genetic sexing strain in the Mediterranean fruit fly, Ceratitis capitata*. Entomologia experimentalis et applicata, 41(3), 231-235.
- Rougier, A., & Lotte, C. (1993). *Predictive Approaches I The Stripping Technique*. In Topical Drug Bioavailability, Bioequivalence, and Penetration (pp. 163-181). Springer US.
- Rumengan, I., Suryanto, E., Modaso, R., Wullur, S., Tallei, T., & Limbong, D. (2014). *Structural Characteristics of Chitin and Chitosan Isolated from the Biomass of Cultivated Rotifer, Brachionus rotundiformis*. Int. J. Fish. Aquat. Sci, 3, 12-18.

- Sadegh Hamidreza, Gomaa AM Ali, Vinod Kumar Gupta, Abdel Salam Hamdy Makhlouf, Ramin Shahryari-ghoshekandi, Mallikarjuna N Nadagouda, Mika Sillanpää, and Elzbieta Megiel. (2017). *The role of nanomaterials as effective adsorbents and their applications in wastewater treatment. Journal of Nanostructure in Chemistry*, pages 1–14.
- Sadeghi Kiakhani, M., Arami, M., y Gharanjig, K. (2013). *Dye removal from colored- textile wastewater using chitosan- PPI dendrimer hybrid as a biopolymer: Optimization, kinetic, and isotherm studies. Journal of Applied Polymer Science*, 127(4), 2607-2619.
- Sarkar, K., Debnath, M., y Kundu, P. P. (2012). *Recyclable crosslinked O-carboxymethyl chitosan for removal of cationic dye from aqueous solutions. Hydrology Current Research*, 3, 1-9.
- Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., y Jeon, Y. J. (1999). *Food applications of chitin and chitosans. Trends in food science y technology*, 10(2), 37-51.
- Shand, H. y Wetter, K.J. (2006). "Shrinking science: An introduction to nanotechnology", in *State of the World 2006: A Worldwatch Institute Report on Progress Toward a Sustainable Society*, edited by Linda Starke. World Watch Institute.
- Sheng, G., Zhu, S., Wang, S., y Wang, Z. (2016). *Correction: Removal of dyes by a novel fly ash–chitosan–graphene oxide composite adsorbent. RSC Adv.*, 6(32), 26885-26885.
- Shi, X., Du, Y., Yang, J., Zhang, B., y Sun, L. (2006). *Effect of degree of substitution and molecular weight of carboxymethyl chitosan nanoparticles on doxorubicin delivery. Journal of Applied Polymer Science*, 100(6), 4689-4696.
- Sierra, D. M. E., Orozco, C. P. O., y Ospina, W. A. (2013). *Optimización de un protocolo de extracción de QT y CS desde caparazones de crustáceos. Scientia et Technica*, 18(1), 260-266.
- Song, Q., Zhang, Z., Gao, J., y Ding, C. (2011). *Synthesis and property studies of N-carboxymethyl chitosan. Journal of Applied Polymer Science*, 119(6), 3282-3285.
- Sun, G. Z., Chen, X. G., Li, Y. Y., Zheng, B., Gong, Z. H., Sun, J. J., ... y Lin, W. X. (2008). *Preparation of H-oleoyl-carboxymethyl-chitosan and the function as a coagulation*

agent for residual oil in aqueous system. *Frontiers of Materials Science in China*, 2(1), 105.

Support Centers of America (SCA). 1995. *Winning Grants Step by Step*. San Francisco. Jossey-Bass Publishers. 93 págs.

Tan, KL y Hameed , BH. *Insight into the adsorption kinetics models for the removal of contaminants from aqueous solutions*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 74:25–48, 2017.

TDR. 2005. *Effective project planning and evaluation in biomedical research*. Training Manual. Geneva. WHO. 199 págs.

Tejada-Tovar, C., Villabona-Ortiz, Á., y Garcés-Jaraba, L. (2015). *Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico*. *Tecnológicas*, 18(34), 109-123.

Toan, N. V., Ng, C. H., Aye, K. N., Trang, T. S., & Stevens, W. F. (2006). *Production of high quality chitin and chitosan from preconditioned shrimp shells*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81(7), 1113-1118.

Tsaih, M. L., y Chen, R. H. (1999). *Molecular weight determination of 83% degree of decetylation chitosan with non-Gaussian and wide range distribution by high-performance size exclusion chromatography and capillary viscometry*. *Journal of applied polymer science*, 71(11), 1905-1913.

Wu, T., Shao, Q., Ge, S., Bao, L., y Liu, Q. (2016). *The facile preparation of novel magnetic zirconia composites with the aid of carboxymethyl chitosan and their efficient removal of dye*. *RSC Advances*, 6(63), 58020-58027.

Xiaolei Qu, Pedro JJ Alvarez, and Qilin Li. (2013). *Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment*. *Water research*, 47(12):3931–3946.

Yen, M.T. and J.L. Mau, 2007. *Selected physical properties of chitin prepared from shiitake stipes*. *LWT-Food Sci. Technol.*, 40: 558-563.

Zhang, M., Haga, A., Sekiguchi, H., & Hirano, S. (2000). *Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (*Bombyx mori*) pupa exuvia*. *International*

Journal of Biological Macromolecules, 27(1), 99-105.

Zhu, A., Jianhong, L., y Wenhui, Y. (2006). *Effective loading and controlled release of camptothecin by O-carboxymethylchitosan aggregates*. Carbohydrate Polymers, 63(1), 89-96.

Zinadini, S., Zinatizadeh, A. A., Rahimi, M., Vatanpour, V., Zangeneh, H., y Beygzadeh, M. (2014). *Novel high flux antifouling nanofiltration membranes for dye removal containing carboxymethyl chitosan coated Fe₃O₄ nanoparticles*. Desalination, 349, 145-154

XI. ANEXOS

Figura 34 Proceso de producción de la mosca *Ceratitis capitata* estéril

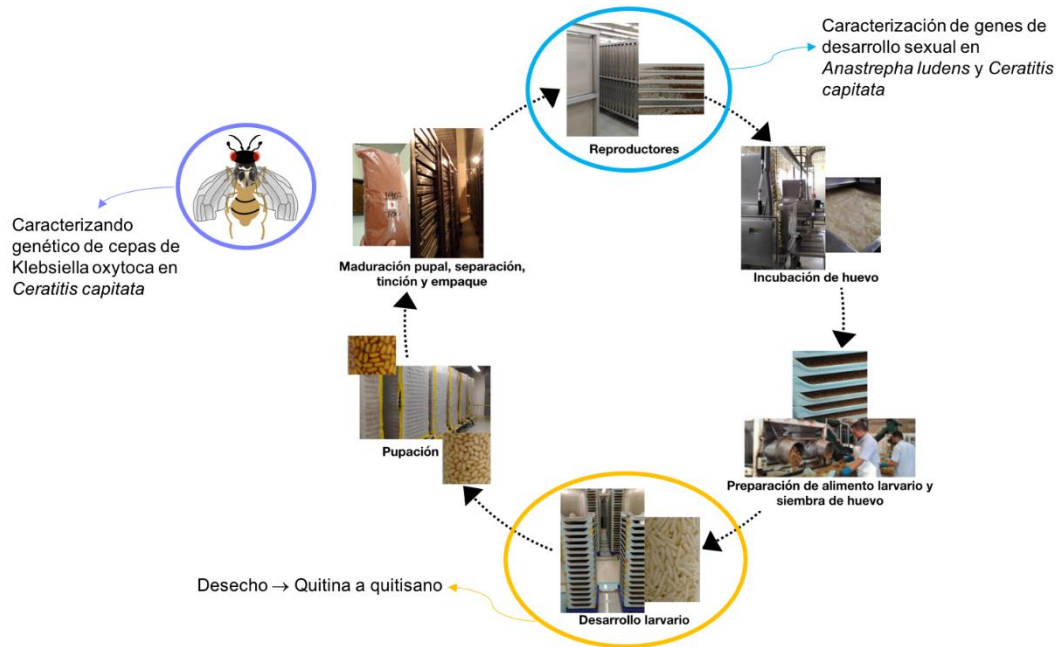


Figura 35 Planta de tratamiento de agua residual



Figura 36 Agua residual después del tratamiento y proceso de filtración realizado en la planta



Figura 37 Área de marcaje, con pigmento fluorescente, del macho estéril.



Figura 38 Muestras de agua residual antes (AF) y después (DF) de la filtración realizada en la planta de tratamiento actual.

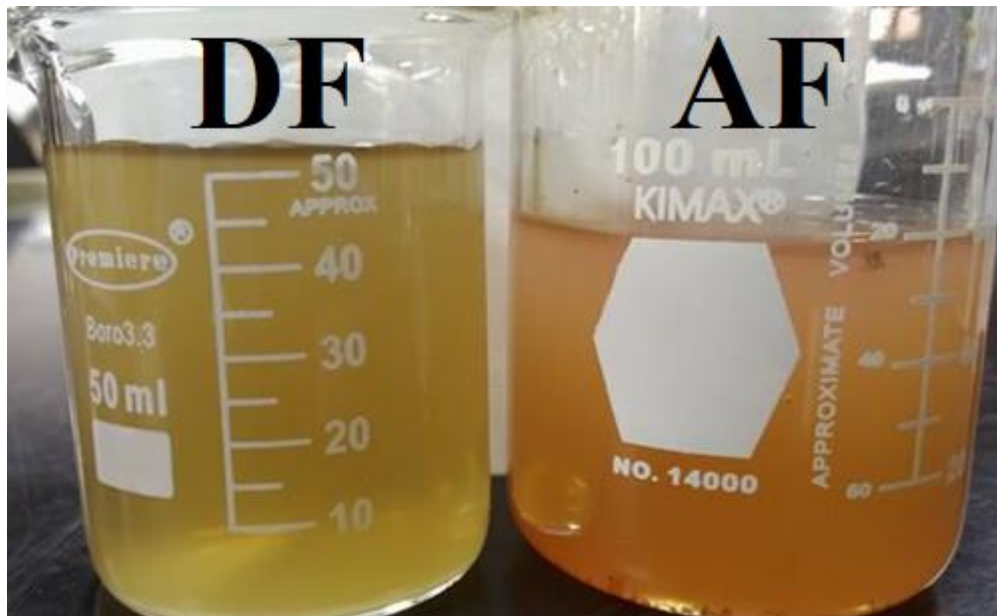


Figura 39 Muestras de agua residual antes (AF) y después (DF) de la filtración realizada en el laboratorio.

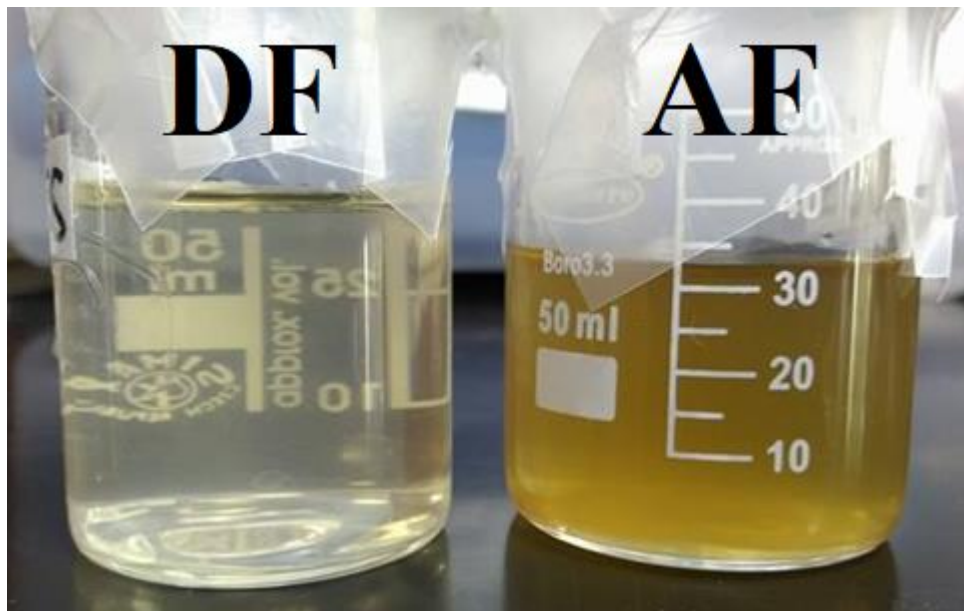


Figura 40 Pupa de mosca *Ceratitis capitata* macho



Figura 41 Pupa de moscas *Ceratitis capitata* hembra



Figura 42 Harina de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra luego de acondicionamiento con ácido benzoico 0.02M



Figura 43 Harina de pupario de moscas *Ceratitis capitata* macho luego de acondicionamiento con ácido benzoico 0.02M



Figura 44 Harina de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra luego de desmineralización con HCl 1M



Figura 45 Harina de pupario de moscas *Ceratitis capitata* macho luego de desmineralización con HCl 1M



Figura 39 Sistema de reflujo empleado para las reacciones de desacetilación de quitinas

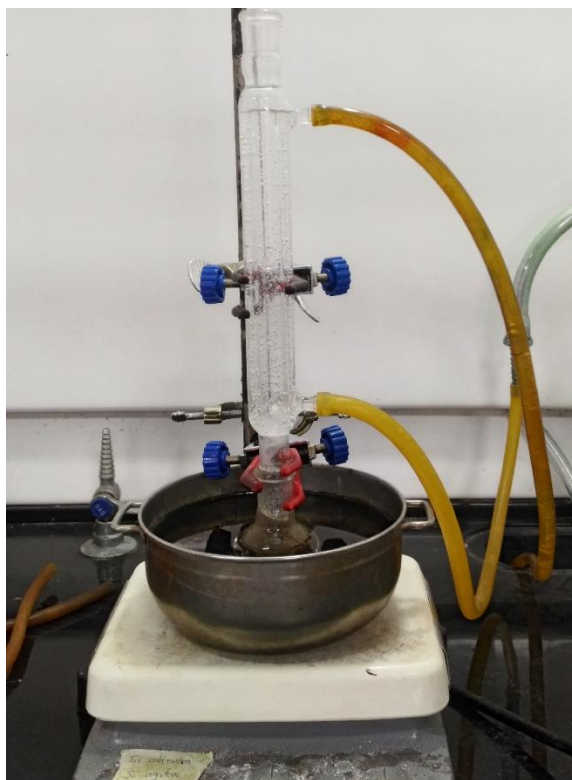


Figura 40 Harina de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra luego de desproteínización con NaOH 1M



Figura 48 Harina de pupario de moscas *Ceratitis capitata* macho luego de desproteinización con NaOH 1M



Figura 49 Quitina de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra



Figura 50 Quitina de pupario de moscas *Ceratitis capitata* macho



Figura 41 Quitosano de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra



Figura 52 Quitosano de pupario de moscas *Ceratitis capitata* macho



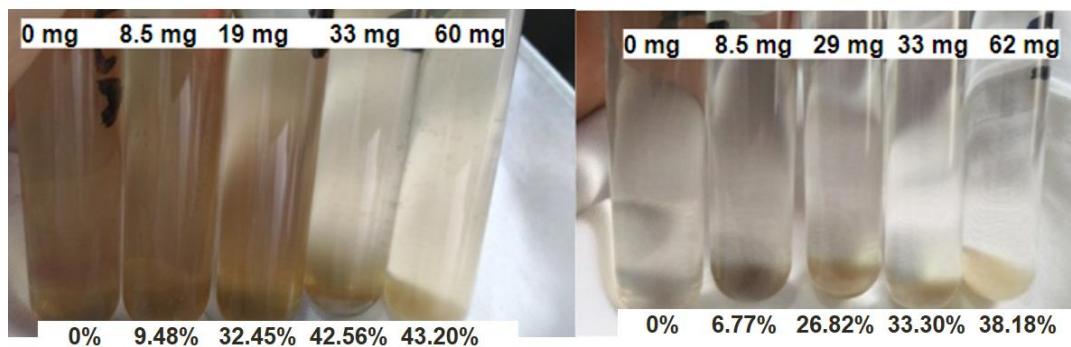
Figura 42 Carboximetilquitosano sódico de pupario de moscas *Ceratitis capitata* hembra



Figura 43 Carboximetilquitosano sódico de pupario de moscas *Ceratitis capitata* macho



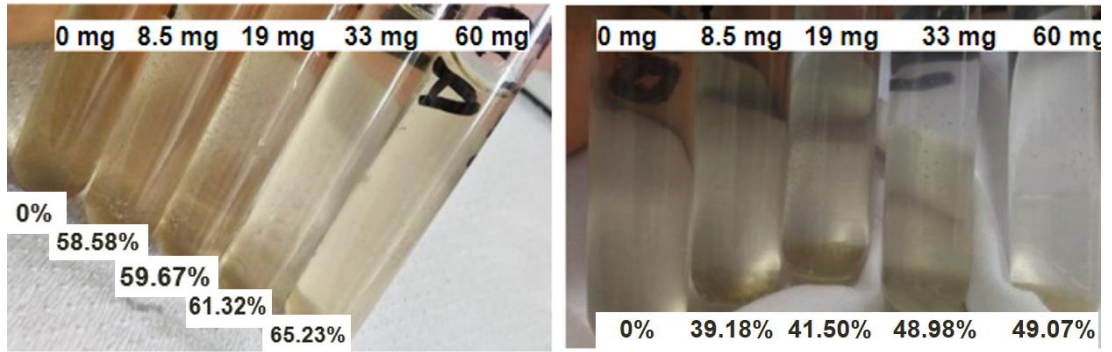
Figura 44 Pruebas de remoción del pigmento Fire Orange de agua residual utilizando nanopartículas de quitosano.



Muestra de agua antes de la filtración realizada en la planta

Muestra de agua después de la filtración realizada la planta

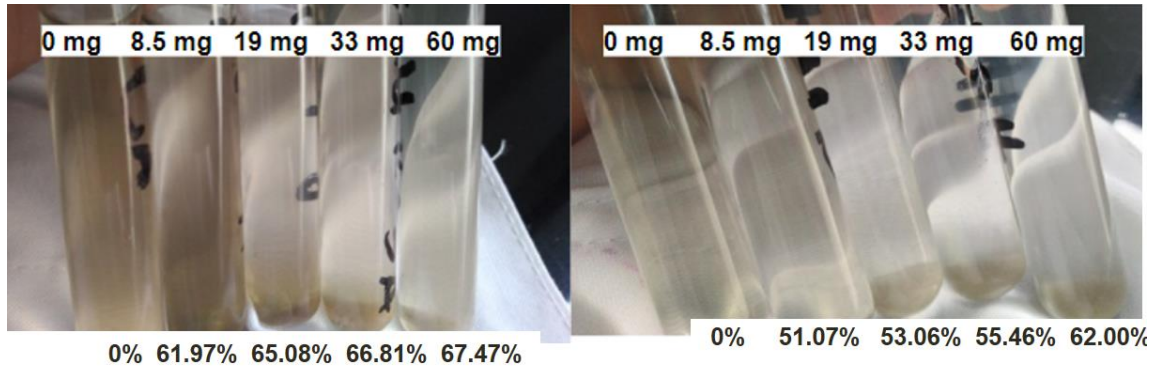
Figura 45 Pruebas de remoción del pigmento Fire Orange de agua residual utilizando nanopartículas de carboximetilquitosano de hembra.



Muestra de agua antes de la filtración realizada en la planta

Muestra de agua después de la filtración realizada la planta

Figura 57 Pruebas de remoción del pigmento Fire Orange de agua residual utilizando nanopartículas de carboximetilquitosano de macho.



Muestra de agua antes de la filtración realizada en la planta

Muestra de agua después de la filtración realizada la planta

XII. GLOSARIO

Absorción: Proceso mediante el cual una sustancia retiene en su estructura moléculas, gaseosas o líquidas, de otra especie química.

Adsorción: Separación de sustancias (líquidas, gaseosas, coloides) suspendidas en un medio, por adherencia a la superficie o a los poros de un sólido.

Coloide: Impurezas, compuestos o sustancias que se dispersan lentamente en un líquido. Poseen un tamaño de 10 a 100nm. Pueden ser partículas independientes o agruparse y formar estructuras complejas.

Coagulación: Desestabilización de un coloide al neutralizar fuerzas que los mantienen separados, por medio de la adición de los coagulantes químicos y la adición de energía cinética.

Floculación: Agregación de partículas sólidas en una dispersión coloidal, por adición de algún agente coagulante; facilita la decantación y filtración del líquido.

Glucopiranosas: Forma cíclica (6 carbonos) de la glucosa, generada por la reacción intramolecular de un grupo alcohol con el carbono carbonílico.

Enlace glucosídico: Unión entre glúcido y otra molécula a través de un átomo de oxígeno formando un éter.

Reticulación iónica: Reacción química de los polímeros donde se forma una red tridimensional por la unión entre diferentes cadenas poliméricas homogéneas por efecto de un ión.

Epitelio: Tejido constituido por células íntimamente unidas, planas o prismáticas, que recubre la superficie externa del cuerpo y de ciertos órganos interiores.

Insectos holometábolos: Insectos que sufren un desarrollo por las fases de embrión, larva, pupa y adulto.

Queratólisis: Disolución de la epidermis.