

OBTENCIÓN DE QUITOSANO Y QUITOSANO RETICULADO A PARTIR DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA PESQUERA Y SU APLICACIÓN PARA LA REMOCION DE CROMO HEXAVALENTE

Jimena Bernadette Dima^{1,2}; Cynthia Sequeiros²; Noemí Elisabet Zaritzky^{1,3*}

*E- mail: zaritzkynoemi@gmail.com

¹Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA -CONICET-UNLP). Calle 47 y 116 La Plata (1900) Argentina

² Centro Nacional Patagónico (CONICET-CENPAT). Argentina

³ Depto de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de La Plata. Argentina

RESUMEN

En el presente trabajo se optimizó el proceso de obtención de quitosano (QS) a partir de diferentes exosqueletos obtenidos de la industria de procesamiento de crustáceos con el objetivo de generar valor agregado a partir de los desechos. Para la obtención de quitina los exosqueletos molidos fueron despigmentados, descalcificados y desproteinizados. Para la obtención de QS la quitina fue desacetilada con NaOH al 50%. El grado de desacetilación del quitosano fue de 90,2% y 86,2%, según la materia prima. El PM fue determinado por el método de viscosidad intrínseca. Se obtuvieron además micropartículas de quitosano (MQS) utilizando tripolifosfato de sodio (TPP) como agente reticulante. Las MQS fueron caracterizadas por espectroscopia infrarroja (FTIR); se determinó el potencial Z y el diámetro medio de la distribución obtenido por SEM fue de 101 nm. Por otra parte se analizó la efectividad de QS y las MQS obtenidas en el tratamiento de aguas. La contaminación de las aguas es uno de los aspectos más preocupantes de la degradación de los medios naturales. Entre los principales agentes contaminantes se encuentran los metales. Para su eliminación a partir de aguas residuales se han utilizado diferentes métodos, sin embargo, el proceso de adsorción a menudo se considera la técnica más adecuada, por su alta eficiencia y menor costo. Se estudió la acción del quitosano (partículas QS y micropartículas MQS) sobre la remoción de Cr(VI), altamente tóxico y cancerígeno, de aguas residuales. Se obtuvieron experimentalmente las isotermas de adsorción del metal, para ambos sistemas, y se analizaron los efectos del pH, el tiempo de contacto y la concentración inicial del metal. Se modelaron los resultados obtenidos utilizando la ecuación de Langmuir, Freundlich y Temkin. La cinética del proceso se evaluó mediante las ecuaciones de pseudo-primer orden, pseudo-segundo orden y Elovich. Ambos sistemas (QS y MQS) mostraron una buena eficiencia en la adsorción de Cr (VI) permitiendo revalorizar los residuos de la industria pesquera de la región.

Palabras claves: Crustáceos, quitosano, quitosano reticulado, remoción de Cr(VI)

1. INTRODUCCIÓN

La industria alimentaria se enfrenta al reto de optimizar la gestión y el tratamiento de los residuos que se generan durante el procesamiento industrial. Los desembarcos de crustáceos en Argentina representan varios miles de toneladas anuales siendo la ciudad de Puerto Madryn (Patagonia-Argentina) uno de los principales puertos de desembarco (SAGyP, 2013). El mayor porcentaje de captura corresponde al langostino, seguido por la centolla, el camarón y los cangrejos. En el procesamiento de dichas especies, para el aprovechamiento del músculo comestible, se generan residuos sólidos de difícil disposición (exoesqueletos), que se acumulan en basurales constituyendo un contaminante ambiental. Estos residuos tienen una composición rica en quitina, de la que se obtienen derivados de gran interés como el quitosano, de variadas aplicaciones industriales. El quitosano (QS) es un polisacárido catiónico natural, biodegradable y biocompatible. Su estructura consiste en unidades de N- acetil D glucosamina unidas por enlaces beta1-4 glicosídicos que le

imparten características similares a la celulosa. El quitosano puede prepararse líquido, en escamas, en polvo o formando micropartículas (MQS), en función de su utilización. En los últimos años las MQS están siendo investigadas en diferentes áreas científicas, ya sea como portadoras de fármacos, como sistema para liberación de proteínas (Calvo y col., 1997), como agente antibacteriano (Wei y col., 2009) o como adsorbente de metales dado su pequeño tamaño versus su gran superficie de contacto (Liu y col., 2009). La contaminación de las aguas es uno de los aspectos más preocupantes de la degradación de los medios naturales. Entre los principales agentes contaminantes se encuentran los metales. Para su eliminación a partir de aguas residuales se han utilizado diferentes métodos, sin embargo, el proceso de adsorción a menudo se considera la técnica más adecuada, por su alta eficiencia y menor costo. El quitosano ha demostrado que es capaz de remover metales como cromo, cobre, mercurio y plomo, entre otros (Hena 2010). Sin embargo, resulta inestables a bajos pH (Schumul y col 2001). Las modificaciones químicas del quitosano son accesibles para evitar su disolución en medios ácidos. De esta manera las cadenas de quitosano pueden ser químicamente reticuladas con tripolisfato de sodio y conducir a matrices estables (Calvo y col., 1997).

El objetivo del presente trabajo fue: i) optimizar el proceso de obtención de quitina y quitosano a partir de exoesqueletos de crustáceos patagónicos; ii) producir micropartículas de quitosano utilizando la técnica de gelificación iónica; iii) estudiar su efectividad sobre la remoción de cromo (VI) en aguas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Obtención y caracterización del quitosano

Exoesqueletos de langostinos y cangrejos patagónicos, molidos y tamizados, se sometieron a un proceso de despigmentación con una mezcla de agua y acetona. Posteriormente, se descalcificaron con HCl 1,5M por 3h y 6h para el langostino y los cangrejos respectivamente. Por último, se desproteinizaron con NaOH al 4,5%. El producto obtenido se lavó con abundante agua destilada, se secó en estufa por 24h y se lo denominó quitina. La quitina obtenida fue tratada con NaOH al 50% a 120°C. Luego, fue filtrada y lavada con abundante agua destilada, se secó en estufa por 24h y se lo denominó quitosano (QS).

La determinación del grado de desacetilación del QS obtenido se realizó por valoración potenciométrica utilizando la técnica original descrita por Broussignac (1968) y por espectroscopía infrarroja (FTIR) utilizando un Espectrómetro Infrarrojo por Transformada de Fourier (Bruker IFS 66). Se usó el método de correlación propuesto por Brugnerotto y col. (2001), donde el grado de acetilación del QS se calcula a partir de la integración de bandas características de acuerdo a la Ecuación 1:

$$DD(\%) = 100 - [31,92 \cdot (A(1320\text{cm}^{-1})/A(1420\text{cm}^{-1})) - 12,20] \quad (1)$$

donde $A(1320\text{cm}^{-1})$ y $A(1420\text{cm}^{-1})$ son las absorbancias de los picos del espectro IR.

La evaluación del peso molecular viscosimétrico del QS se llevó a cabo mediante la técnica de viscosimetría capilar utilizando un viscosímetro de Ostwald y la ecuación de Mark-Houwink-Kuhn-Sakurada (MHKS).

$$[\eta] = k M^a \quad (2)$$

2.2 Elaboración de micropartículas de quitosano con tripolisfato (TPP)

Debido a la toxicidad del glutaraldehído y otras moléculas orgánicas utilizadas en la síntesis de geles con uniones covalentes, se propuso la utilización de la técnica de gelificación iónica, utilizando tripolisfato como agente reticulante. Las micropartículas de quitosano se prepararon tomando como base el procedimiento reportado por Calvo y col., (1997). Para ello se realizaron diversas pruebas con el fin de obtener el tamaño de las partículas en suspensión deseado, variando la concentración de quitosano y de TPP. Luego, bajo agitación magnética constante y a temperatura ambiente, se agregó gota a gota, con una jeringa insulínica, 1mL de solución acuosa de TPP a 3 mL de la solución quitosano. Las micropartículas se recolectaron por centrifugación. El tamaño de la partícula se determinó

por espectroscopía de correlación de fotones utilizando un equipo Delsa™Nano C Instrument (Beckman Coulter) y por observación en un microscopio electrónico de barrido (SEM) Philips X-L 30.

2.3 Uso de QS y MQS en la remoción de cromo hexavalente Cr (VI)

Se estudió la capacidad de adsorción del QS y las MQS para eliminar el Cr(VI) de aguas residuales. Los experimentos de adsorción se realizaron bajo diferentes condiciones de: concentración inicial de Cr (VI) (50 a 400 mg L), tiempos de contacto (30min, 1h, 2h, 3h), y pH (2-6). Los experimentos de adsorción se llevaron a cabo utilizando 80mg de QS y 40mg de MQS en 50ml de volumen de Cr (VI). Todos los experimentos se llevaron a cabo en ensayos batch a 25°C, bajo agitación constante. Las concentraciones finales de Cr(VI) se determinaron por espectrometría de absorción atómica de llama (Instrumental Laboratorio IL457). La capacidad de adsorción de Cr(VI) en condiciones de equilibrio se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$Q_e = \frac{(C_i - C_{eq}) V}{w} \quad (3)$$

donde Q_e (mg/g) es la cantidad de iones metálicos adsorbidos, C_i y C_{eq} son las concentraciones de metal (mg/l) en la solución a tiempo cero y después del equilibrio, V (L) es el volumen de la solución y w es la masa (g) del adsorbente.

Para la descripción matemática de las relaciones de equilibrio de los iones Cr(VI) en QS y MQS se utilizaron las isoterms de Langmuir, Freundlich y Temkin. Los análisis cinéticos se determinaron usando los modelos de pseudo primer y segundo orden y la ecuación de Elovich. Los parámetros de operación fueron: $T = 25^\circ\text{C}$, $\text{pH}=4$, tiempo=3h.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización del quitosano obtenido

La Tabla 1 muestra los porcentajes de rendimiento del proceso de obtención de quitosano de langostino. El rendimiento en quitina resultó de 15,7% y 25,9% para cangrejo y langostino respectivamente. La Tabla 2 muestra los grados de desacetilación y peso molecular de los quitosanos obtenidos.

3.2 Resultados de la obtención y caracterización de las MQS reticuladas con TPP

Las micropartículas se forman espontáneamente tras la incorporación de 1ml de la solución de TPP a 3ml de la solución ácida de QS. Un buen tamaño de partícula con una suspensión estable se encontró para una concentración final de 1-1,5g/L de TPP y 1,25 g/L de QS; a esta concentración, el tamaño medio de las MQS fue 101 nm ($P_{10}= 88\text{nm}$; $P_{90}=145\text{nm}$) con una distribución de tamaño estrecha (índice de polidispersidad <1). El tamaño de las MQS determinados por el equipo Coulter Beckman estuvo de acuerdo con el observado por microscopía SEM (Fig. 1), siendo el diámetro medio de las MQS de 101 nm, pudiendo ser consideradas como nanopartículas (Qu y col, 2013).

TABLA 1. Rendimiento del proceso de obtención de quitosano de langostino

Porcentaje de quitosano a partir de la quitina=	77%
Porcentaje de quitina a partir de residuo seco=	24.9%
Porcentaje de residuo seco a partir de residuo húmedo* =	42%
Porcentaje de residuo húmedo a partir del peso total del animal =	30%
Rendimiento global del proceso:	2.42%

TABLA 2. Caracterización del quitosano obtenido

	QS Cangrejos	QS langostino
Peso Molecular	3,10 x10 ⁵	2,39x10 ⁵ Da
FTIR (DD%)	80,8%	88,9%
M. potenciométrico	86,2%	90,2%

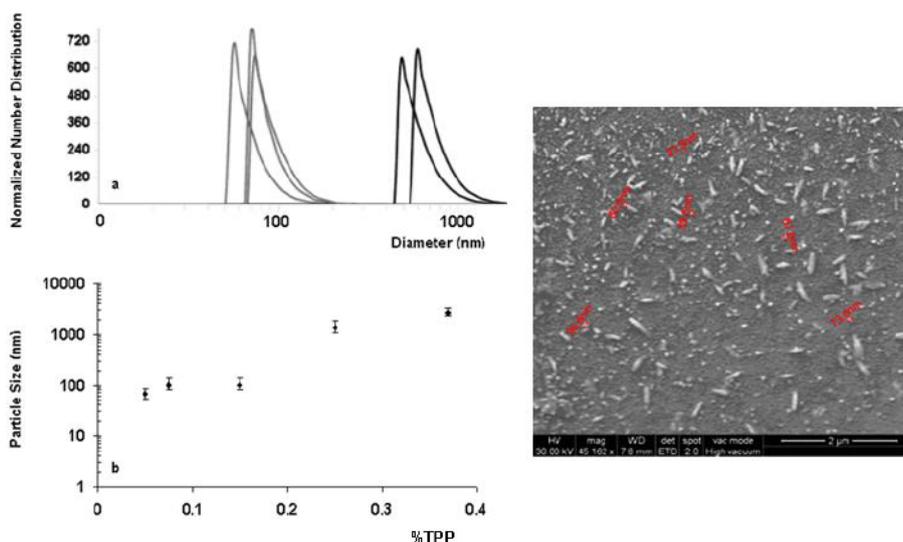


Fig. 1. Distribución del tamaño de partícula (a); tamaño de partícula en función del TPP añadido (b); micrografías de MQS para una relación QS- TPP de 1,25 mg/ml:1,5mg/ml

La Figura 2 muestra el FTIR del QS de exosqueleto de langostino y las MQS reticuladas con TPP. Las intensidades de banda $-\text{CONH}_2$ a 1650cm^{-1} y $-\text{NH}_2$ a 1598cm^{-1} , que se observan claramente en el quitosano puro, no son nítidas en el IR de las MQS y aparecen dos nuevas bandas características a 1635cm^{-1} y 1559cm^{-1} , que muestran que los grupos aminos fueron reticulados con las moléculas de TPP

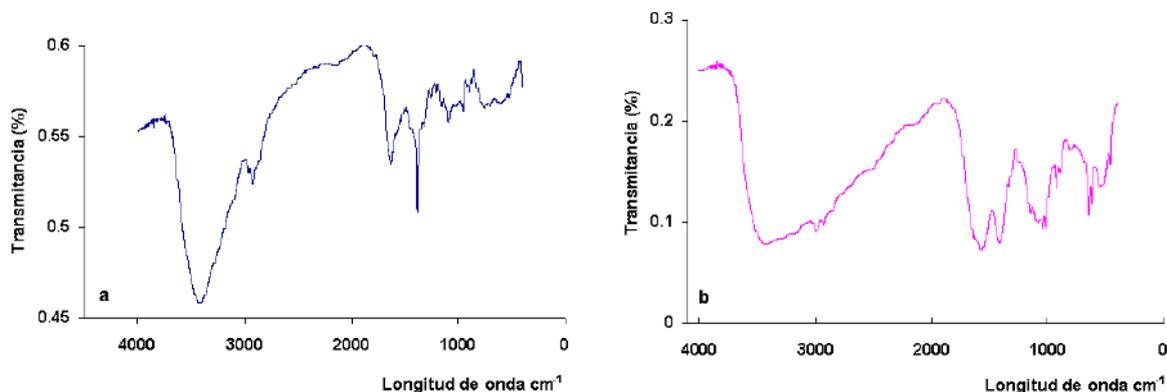


Fig 2. Espectros infrarrojos (FTIR) de: a- quitosano obtenido de langostinos (QS) y b- micropartículas reticuladas con TPP (MQS).

3.3 Resultados de la remoción de Cr(VI) sobre QS y MQS

La Figura 3 muestra el efecto simultáneo de la concentración de Cr(VI) inicial y el pH sobre el porcentaje de eliminación de Cr (VI) para QS y MQS respectivamente. La capacidad de remoción de Cr(VI) se redujo en un 29% para QS (Fig 3a) y aumento en un 80% con las MQS (Fig. 3b), cuando el pH disminuyó de 4 a 2. El equilibrio se alcanzó después de 1h de contacto con el QS y 2h con las MQS.

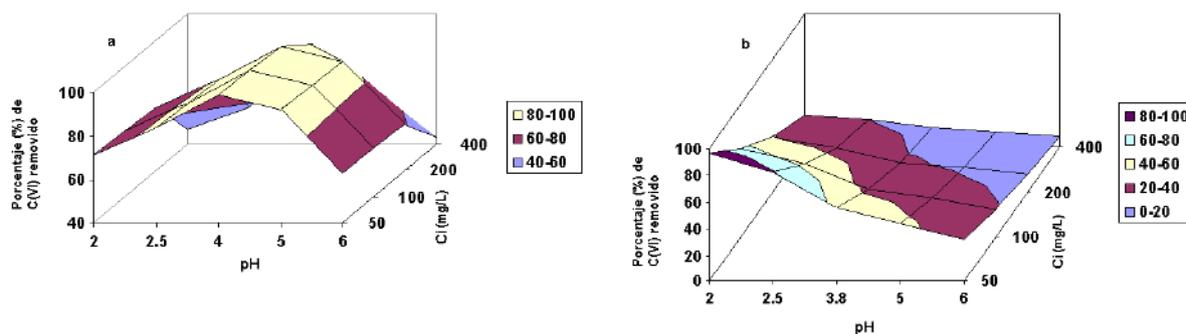


Fig 3. Porcentaje de Cr(VI) removido en función del pH y de la concentración inicial de cromo hexavalente: a) QS; b) MQS.

3.5. Relaciones de equilibrio y estudios cinéticos

Los datos de equilibrio se analizaron utilizando las expresiones de las isothermas de Langmuir, Freundlich, y Temkin (Sag y Aktay, 2002). La isoterma de Langmuir está dada por la ecuación:

$$\frac{C_{eq}}{Q_e} = \frac{C_{eq}}{Q_m} + \frac{1}{K_L Q_m} \tag{4}$$

Q_e es cantidad adsorbida por unidad de peso de adsorbente en el equilibrio (mg/g); C_{eq} concentración de equilibrio del adsorbato en solución después de la adsorción (mg/L), K_L constante de Langmuir (g/L) y Q_m máxima capacidad de adsorción en la monocapa (mg/g). La isoterma de Freundlich se puede definir como:

$$\ln Q_e = \ln K_f + (1/n) \ln C_{eq} \tag{5}$$

K_f constante de Freundlich (mg/g) y n factor de heterogeneidad relacionado con la intensidad de adsorción.

La isoterma de Temkin en su forma lineal está dada por la ecuación:

$$Q_e = B_t \ln(K_T) + B_t \ln(C_{eq}) \tag{6}$$

B_t , se relaciona con el calor de adsorción y K_T es la constante de unión de equilibrio.

Los parámetros obtenidos de las ecuaciones de adsorción se muestran en la Tabla 3. El modelo de Langmuir mostró una mejor correlación de los datos, indicando la naturaleza homogénea del adsorbente.

TABLA 3. Parámetros de las isothermas de equilibrio para Cr (VI) adsorbido en QS y MQS.

	Langmuir			Freundlich			Temkin		
	Q_m (mg/g)	K_L (l/mg)	R^2	$1/n$	K_f (mg/g)	R^2	B_t	K_T (l/mg)	R^2
QS	250	0.018	0.999	0.43	199.52	0.941	45.01	2.76	0.997
MQS	68.9	0.014	0.990	0.36	86.12	0.983	13.95	1.76	0.989

Las ecuaciones cinéticas de pseudo-primer orden, pseudo-segundo orden y la ecuación Elovich (Sag y Aktay, 2002) se ajustaron a los datos experimentales. El modelo cinético de pseudo primer orden, integrado, está dado por:

$$\ln\left(\frac{Q_e}{Q_e - Q}\right) = k_1 t \tag{7}$$

Siendo K_1 es la constante de velocidad (min^{-1}):

La cinética de pseudo- segundo orden, se representa en forma integrada por:

$$\frac{t}{Q} = \frac{1}{k_2 Q_e^2} + \frac{1}{Q_e} t \quad (8)$$

donde k_2 es la constante de velocidad de pseudo segundo orden.

La ecuación de Elovich, se utiliza en las cinéticas que describen mecanismos en la naturaleza. Generalmente se expresa como:

$$Q = \beta \ln(\alpha \beta) + \beta \ln t \quad (9)$$

Q es la cantidad de metal adsorbido en un tiempo t , α es la velocidad de adsorción inicial ($\text{mg g}^{-1} \text{h}^{-1}$), y β es la constante de Elovich.

Los parámetros cinéticos se muestran en la Tabla 4. Para el QS obtenido, los estudios cinéticos indicaron una rápida eliminación de cromo de las soluciones acuosas. El análisis de la cinética de la adsorción mostró que el modelo cinético de pseudo segundo orden fue el que mejor se ajustó a los datos experimentales.

TABLA 4. Parámetros cinéticos para Cr(VI) adsorbido en QS y MQS

	Pseudo-Primer orden		Pseudo-Segundo orden		Elovich		
	$k_1(\text{h}^{-1})$	R^2	$k_2(\text{g/mgh})$	R^2	$\beta(\text{g/mg})$	$\alpha_-(\text{mg/ggh})$	R^2
QS	2.71	0.871	0.76	0.999	0.37	6.0×10^{10}	0.750
MQS	1.94	0.932	0.078	0.946	0.10	116.8	0.877

4. CONCLUSIONES

Se optimizó el proceso de obtención de quitosano para diferentes materias primas proveniente de desechos de la industria pesquera (langostinos y cangrejos). El rendimiento varió según la materia prima de origen. Los grados de desacetilación obtenidos se encontraron dentro de los valores reportados para ser considerado quitosano. Se obtuvieron micropartículas utilizando tripolifosfato de sodio como agente reticulante. El tamaño medio de partícula fue 101 nm para una combinación de QS-TPP de 1,25 g/L y 1,5 g/L, respectivamente. Se realizaron estudios de adsorción para investigar la capacidad del QS y MQS para remover Cr(VI). La cantidad de cromo adsorbida varió notablemente con el pH de la solución inicial. La isoterma de equilibrio de Langmuir y el modelo cinético de Pseudo-segundo orden proporcionó la mejor correlación de los datos experimentales. El quitosano obtenido de desechos de crustáceos patagónicos puede aplicarse de manera efectiva para la eliminación de Cr(VI) de aguas residuales, dada su muy buena capacidad de absorción.

BIBLIOGRAFIA

- Calvo, P., Remuñan-López, C., Vila-Jato, J.L. & Alonso, M.J., 1997. Chitosan and chitosan/ethylene oxide-propylene oxide block copolymer microparticles as novel carriers for proteins and vaccines. *Pharm. Res.*, 14(10), 1431-1436.
- Liu, X., Hu, Q., Fang, Z., Zhang, X., & Zhang, B., 2009. Magnetic chitosan nanocomposites: a useful recyclable tool for heavy metal ion removal. *Langmuir*, 25(1), 3-8.
- Qu, X., Alvarez, P.J. & Li, Q., 2013. Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment. *Water Res.*, 47(12), 3931-3946.
- Secretaría Nacional de Agricultura Ganadería y Pesca. Informes de desembarques de crustáceos 2005-2011.
- Wei, D., Sun, W., Qian, W., Ye, Y., & Ma, X., 2009. The synthesis of chitosan-based silver nanoparticles and their antibacterial activity. *Carbohydrate Res.* 344(17), 2375-2382.
- Broussignac, P., 1968. Chitosan: a natural polymer not well known by the industry. *Chem. Ind. Genie. Chem.* 99, 1241-1247.
- Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F.M., Argüelles-Monal, W., Desbrieres, J. & Rinaudo, M., 2001. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer.* 42(8), 3569-3580.
- Sağ, Y. & Aktay, Y., 2002. Kinetic studies on sorption of Cr (VI) and Cu (II) ions by chitin, chitosan and *Rhizopus arrhizus*. *Biochem. Eng. J.* 12(2), 143-153
- Schmuhl, R., Krieg, H.M. & Keizer, K., 2001. Adsorption of Cu (II) and Cr (VI) ions by chitosan: Kinetics and equilibrium studies. *Water Sa.* 27(1), 1-8.