



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS MATEMÁTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

TESIS DE GRADO

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

INGENIERO QUÍMICO

TEMA:

“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO DE BAJO PESO MOLECULAR A PARTIR DEL EXOESQUELETO DE CAMARÓN (*Litopenaeus vannamei*) Y SU APLICACIÓN EN LAS AGUAS RESIDUALES PROVENIENTES DE LA TRAMPA DE GRASA DE LA ESTACIÓN DE SERVICIO UNISER S.A.”

AUTOR:

JUAN MANUEL ÁLAVA CEDEÑO

DIRECTOR DE TESIS:

ING. RAMÓN CEVALLOS

PORTOVIEJO - MANABÍ - ECUADOR

2015

TEMA:

“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO DE BAJO PESO MOLECULAR A PARTIR DEL EXOESQUELETO DE CAMARÓN (*Litopenaeus vannamei*) Y SU APLICACIÓN EN LAS AGUAS RESIDUALES PROVENIENTES DE LA TRAMPA DE GRASA DE LA ESTACIÓN DE SERVICIO UNISER S.A.”

1. Objetivos

1.1. Objetivo general

- Obtener y caracterizar quitosano de bajo peso molecular a partir del exoesqueleto de camarón de la especie *Litopenaeus vannamei* para ser aplicado en aguas provenientes de la trampa de grasa de la estación de servicio UNISER S.A.

1.2. Objetivos Específicos

- Definir un método químico en base a información secundaria para obtener quitosano de bajo peso molecular.
- Caracterizar el quitosano obtenido mediante análisis físicos y químicos con el objeto de determinar la calidad del mismo.
- Comparar las propiedades del quitosano obtenido con un tipo de quitosano de estándar comercial.
- Aplicar el quitosano obtenido en una muestra de agua contaminada por derivados de petróleo para determinar sus propiedades clarificantes.

RESUMEN

En este estudio, el residuo del procesamiento de camarón (*Litopenaeus vannamei*), llevado a cabo en la empacadora Dufer, fue utilizado para obtener quitina y quitosano mediante un proceso químico por etapas sucesivas; el procedimiento arrojó rendimientos de 19-23% para la quitina y 16% para el quitosano. En una siguiente etapa, el quitosano producido (Q1, Q2 y QBPM), se aplicó a diferentes muestras de agua residual (Mc1, Mc2, Mc3 y Mc4), tomadas de las trampas de grasa de la estación de servicio UNISER S.A. para determinar los factores más influyentes en el proceso de clarificación y al mismo tiempo establecer el efecto que tiene el peso molecular promedio del quitosano en el porcentaje de remoción de turbidez de estas muestras.

Adicionalmente, el quitosano producido fue caracterizado por titulación potenciométrica, resultando en un grado de desacetilación de 87.18% (Q1), 93.72% (Q2) y 86.78% (QBPM) y por viscosimetría intrínseca, logrando un peso molecular promedio de 5.2×10^5 (Q1), 5.4×10^5 (Q2) y 1.7×10^5 (QBPM). Por otro lado, el quitosano QBPM se obtuvo luego de modificar su peso molecular promedio con ácido sulfúrico 96 mM por 4 horas a 120 °C.

En el proceso de aplicación del quitosano, se planteó un diseño factorial completamente aleatorio 2^k resultando en un evidente efecto estadísticamente significativo para todos los factores estudiados, esto es, el pH (5.5–7.5), tipo de quitosano (Q1–Q2) y método de agitación (M1–M2), en el porcentaje de remoción de turbidez y de demanda química de oxígeno de la muestra Mc2 mediante una prueba de jarras. En esta misma línea, un pH de 5.5, una dosis de 2 mg/l de quitosano Q1 y método de agitación M1, fue aplicado a la muestra Mc3 disminuyendo la turbidez en 98.19%, DQO en 78.17%, color en un 91.45% y TPH en 99.09%.

Finalmente, el quitosano con diferentes pesos moleculares promedio (Q1, Q2 y QBPM) fue aplicado a la muestra Mc4 con una dosis de 1.4144 mg/l obteniendo

porcentajes de remoción de turbidez de 70.74% (QBPM), 78.67% (Q1) y 81.26% (Q2).

2. Diseño Metodológico

2.1. Método de investigación

La metodología de investigación que se aplicó tiene un enfoque de tipo cuantitativo, el cual usa la recolección de datos para probar hipótesis, con base a medición numérica y el análisis estadístico, para establecer patrones de comportamiento y probar teorías (Hernández, Fernández, & Baptista, 2010). Concepto que se ajusta a esta investigación ya que se realizaron diversos tipos de análisis estadísticos y procesos de obtención de quitosano, además de la caracterización de las aguas contaminadas con derivados del petróleo presentes en las trampas de grasa de la estación de servicio UNISER S.A. así como su debido tratamiento.

2.2. Técnica

Las diferentes técnicas de ensayo de laboratorio utilizadas han sido estandarizadas, es decir, existe un método desarrollado que se aplica como norma para la mayoría de ellas; por ejemplo, las aplicadas a caracterizar la muestra de agua contaminada con residuos de derivados de petróleo, en donde se puede analizar: el contenido de hidrocarburos totales, metales pesados, demanda química y biológica de oxígeno, turbiedad, entre otros. Por otro lado, se combinaron técnicas de caracterización alternativas a las denominadas de rigor para el caso del quitosano, debido a la complejidad y limitaciones, en cuanto a la adquisición de equipos necesarios para llevarlas a cabo, como es el caso del grado de desacetilación que está normada por el ensayo (ASTM F 2260-03), el cual utiliza un espectrómetro de resonancia magnética nuclear (NMR) de alto costo y el peso molecular determinado por Cromatografía de Permeación en Gel GPC o por Cromatografía de Exclusión de Tamaño por (SEC-MALLS).

2.3. Población y muestra

El universo de aplicación de esta investigación se limita a todas aquellas actividades relacionadas a la explotación, producción, comercialización y manejo en general tanto de petróleo como sus derivados, en donde se produzcan residuos de agua

contaminada con mencionados productos y que requieren ser tratados antes de su disposición final o reutilizados para mejorar sus características, ambientalmente aceptables, de acuerdo al ministerio del ambiente (Decreto Ejecutivo 1215), dentro del territorio nacional.

Por otro lado, la muestra utilizada fue de carácter no probabilística, es decir, dirigida a un subgrupo de la investigación, en donde la elección de los elementos no depende de la probabilidad sino de las características de la investigación (Hernández et al., 2010), la cual tiene como propósito principal demostrar la eficiencia del Quitosano obtenido en las aguas residuales contaminada con derivados de petróleo.

En adición, se recolectaron muestras de aguas contaminadas por derivados de petróleos de las trampas de grasa que tiene la estación de servicio UNISER S.A.. Se recolectó suficiente muestra para correr los ensayos de la determinación de DQO, color, turbiedad, pH, SST, SSV, Cromo, Vanadio, Bario, Plomo e hidrocarburos totales TPH, así como también para las distintas pruebas o test de jarras.

2.4. Técnicas de Análisis

Todos los reactivos utilizados para los diferentes procedimientos de obtención y caracterización del quitosano fueron de grado analítico marca Merck con autorización de compra No. 008779 por parte del CONSEP.

2.5. Caracterización del quitosano

El producto resultante del proceso químico de desmineralización, desproteínización, decoloración y desacetilación de la quitina, presente en el exoesqueleto del camarón, se caracterizó de acuerdo a sus parámetros más críticos, que le dan las propiedades requeridas para esta investigación, como son el grado de desacetilación (%DD) por titulación potenciométrica y el peso molecular promedio por viscosimetría intrínseca; adicionalmente, se determinó el contenido de humedad, cenizas y solubilidad comparándolos con los parámetros de un quitosano comúnmente comercializados.

2.6. Peso molecular

Para la determinación del peso molecular promedio (M_v) se utilizó el método viscosimétrico en el cual se empleó un viscosímetro capilar Cannon-Fenske 150 Y137 (ASTM D 445) con baño termostático a 25 °C. En el viscosímetro se corrieron las muestras de quitosano disueltas en ácido acético 0,1 M y cloruro de sodio 0,2 M determinando el tiempo de caída de las diluciones de quitosano (t) y una de referencia con nula concentración (t_0).

Los parámetros citados se emplearon para la determinación de la viscosidad intrínseca $[\eta]$ mediante el método gráfico, empleando la ecuación de Huggings, la cual relaciona la viscosidad reducida (η_{sp}/C) con la concentración del polímero.

En donde la constante de Huggings K determina si existen procesos de agregación cuando el valor obtenido se aproxima a 0.5 o no cuando se aproxima a 0.3 (Parada, Crespín, Miranda, & Katime, 2004).

Luego de haber obtenido la viscosidad intrínseca $[\eta]$, se la utilizó para determinar el peso molecular promedio del quitosano (M_v) en g/mol, mediante la ecuación de Mark-Houwink (Ec. 3), utilizando los valores estándar reportados de las constantes de $K = 1,81 \times 10^{-3}$ y $a = 0,93$ para la solución de ácido acético 0,1 M y cloruro de sodio 0,2 M 1:1 (v/v) (Roberts & Domszy, 1982).

2.7. Grado de desacetilación del quitosano

2.7.1. Titulación potenciométrica

Este procedimiento resulta ser el más sencillo de aplicar y de menor costo, con resultados aceptados por varias publicaciones con respecto a la determinación del grado de desacetilación (Czechowska-Biskup et al., 2012). Para el ensayo se disolvieron 0,2 g de quitosano seco en 20 cm³ de ácido clorhídrico 0,1 M y 25 cm³ de agua desionizada, se los dejó en agitación continua por 30 minutos y luego se agregó 25 cm³ y se siguió agitando por 30 minutos más. Una vez que el quitosano se disolvió completamente se procedió a titular la solución con hidróxido de sodio, con

una concentración de 0,1 M, utilizando una micropipeta Eppendorf (1000 μ l) añadiendo 500 μ l de NaOH cada vez y anotando el cambio en el pH. Una vez alcanzado un pH de alrededor de 11, se tabularon los resultados en una hoja de cálculo para ver el comportamiento del pH y la derivada en función del volumen de NaOH utilizado y así conocer los puntos de inflexión (V1 y V2).

2.8. Toma de muestra

Las muestras de agua contaminada provenientes de las trampas de grasa de la estación de servicio UNISER S.A. fueron recolectadas en galones de plástico y llenadas hasta el tope, de la forma más homogénea posible. Las muestras se tomaron de las tres trampas de grasa que recolecta los residuos líquidos resultantes del expendio de los derivados del petróleo. Una vez recolectada la muestra se la llevó al laboratorio de Aguas y Medio Ambiente de la Universidad Técnica de Manabí para realizar los respectivos análisis y pruebas; del mismo modo, se procedió a enviar muestra suficiente al laboratorio acreditado Grupo Químico Marcos para la determinación de Hidrocarburos Totales de Petróleo, Cromo, Vanadio, Bario y Plomo.

Debido a que las características del agua residual a ser tratada son cambiantes, se procedió a dar tratamiento a el agua saliente, desde la última trampa de grasa hacia el alcantarillado municipal, así como a la que se recolecta en la primera de las tres trampas de la estación de servicio. Finalmente, se recolectó muestra aparentemente de alta contaminación (Mc3) producto de un incidente esporádico en donde se derramó el derivado y se recolectó en las trampas de grasa; antes de su eliminación por los gestores ambientales de Oroazul Cia. Ltda se solicitó a la gerencia utilizar los residuos para ser caracterizados por el Grupo Químico Marcos C. LTDA. y tratados en el laboratorio de la Universidad para motivos de esta investigación.

2.9. Proceso de clarificación

En este proceso se evaluaron las propiedades floculantes de los tres tipos de quitosano obtenidos en el laboratorio (QBPM, Q1 y Q2), mediante en un test o

prueba de Jarras. Se procedió a agregar un volumen de 1000 ml de la muestra en cada una de las cuatro jarras del equipo. El tipo de quitosano, pH y método de agitación fueron evaluados en un Diseño de Experimentos (DOE) completo con tres réplicas. Además, se comparó la efectividad del quitosano frente al Policloruro de Aluminio (PAC) al determinar cuál era la mejor de las dosis y el valor de turbiedad obtenido en una prueba preliminar.

2.10. Determinación de parámetros físico-químicos de la muestra

La muestra de agua contaminada (Mc3) con residuos de origen petrolero se envió al laboratorio acreditado Grupo Químico Marcos C. LTDA. para determinar: Hidrocarburos Totales de Petróleo, Cromo, Vanadio, Bario y Plomo; mientras que en los laboratorios de Química y de Aguas y Medio Ambiente de la Universidad Técnica de Manabí se determinó: pH, turbiedad, demanda química de oxígeno total (DQO), color, sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV) y sólidos disueltos totales (TDS).

3. Conclusiones

Se pudo producir quitina y quitosano, a partir de los residuos del exoesqueleto de camarón *Litopenaeus vannamei* que se generan en la empacadora Dufer y aplicarlos en el proceso de clarificación de muestras contaminadas con residuos de derivados del petróleo que provienen de la estación de servicio UNISER S.A., dándole de esta manera un uso con alto valor agregado a mencionado residuo.

El método químico por etapas utilizado para la obtención de quitina presentó muy buenos resultados en cuanto a la remoción de proteínas, minerales y color, cuando se emplearon proporciones solvente:soluto mayores en cada una de las etapas del proceso. Producto de aquello, se alcanzó una quitina con condiciones adecuadas para ser utilizada en la producción de quitosano (Q2) con un alto grado de desacetilación y un peso molecular medio, luego de tres etapas sucesivas de hidrólisis química alcalina. Por otro lado, la quitina obtenida con una proporción solvente:soluto menor (Q1) en su producción, resultó en el uso de cinco etapas sucesivas para alcanzar un

grado de desacetilación similar. Finalmente, la modificación del peso molecular con ácido sulfúrico diluido tuvo altos rendimientos de recuperación de la masa de quitosano tratada y se logró alcanzar un peso molecular tres veces menor que el inicial, sin alterar significativamente el grado de desacetilación.

Los parámetros caracterizados del quitosano, como son el %DD y el peso molecular promedio, presentan valores de un producto de buena calidad para su uso en las diferentes aplicaciones industriales que tiene el quitosano y de calidad relativamente alta para ser usada en el tratamiento de aguas residuales (Zamani & Taherzadeh, 2010), lo que se reflejó en su gran eficiencia al momento de ser aplicado en el proceso de clarificación de las muestras contaminadas (Mc1, Mc2, Mc3 y Mc4), presentando valores de remoción por encima del 90% como se reporta para quitosanos comerciales aplicados en otras investigaciones similares (Agulló et al., 2004).

La metodología utilizada para llevar a cabo la aplicación de quitosano en las muestras de agua residual, provenientes de las trampas de grasa de la estación de servicio UNISER S.A., permitió obtener un modelo de predicción para el porcentaje de remoción de turbidez en función de las condiciones de aplicación de los factores planteados en el diseño experimental. En esta misma línea, se pudo comprobar, mediante el factor de probabilidad, que tanto el pH, método de agitación y tipo de quitosano utilizado tuvieron un efecto estadísticamente significativo en la variable de respuesta, es decir, presentaron diferentes porcentajes de remoción de turbiedad al cambiar sus parámetros de aplicación. En este sentido, se obtuvieron mejores resultados promedio cuando se usó pH de 5.5, quitosano Q2 y el método de agitación M1. Por otro lado, los resultados no presentaron una correlación estadística de los factores estudiados en la remoción de la demanda química de oxígeno, excepto para el pH.

En base al análisis del diseño experimental y a la prueba de jarras usado para comparar la efectividad de los tres quitosanos obtenidos (QBPM, Q1, Q2) en la muestra Mc4, tanto el peso molecular promedio como el grado de desacetilación del

quitosano fueron los factores que determinaron una mayor o menor remoción de turbidez. Para el caso específico de este estudio, cuando se aplicó quitosano (Q2) con un peso molecular promedio mayor y un alto grado de desacetilación, se obtuvo una mayor remoción de la turbidez de la muestra; en contraste con el quitosano (QBPM) que tenía un peso molecular promedio menor y un alto grado de desacetilación, lo que permite demostrar el rechazo la hipótesis nula y la aceptación de la hipótesis alternativa 2 en donde se relaciona al porcentaje de remoción de turbidez con el peso molecular alto con %DD alto.

Producto de esta investigación, la estación de servicio UNISER S.A. cuenta con una alternativa de tratamiento de las aguas residuales, que provienen de sus trampas de grasa, aplicable en situaciones esporádicas en donde las características del agua residual sobrepasen los límites de remoción de contaminantes, para los cuales fue diseñado el sistema de trampa de grasas.

4. Recomendaciones

El proceso de obtención de quitina y quitosano, citado en este estudio, debería ser evaluado detalladamente con el propósito de determinar la factibilidad económica y posible implantación de infraestructura necesaria para su procesamiento en la provincia ya que por un lado se aprovecharían residuos de camarón, que fácilmente podrían ser fuente de contaminación y por otro lado, se desarrollarían aplicaciones en el área industrial e investigativa.

El método químico de obtención de quitosano es el más efectivo conocido actualmente; sin embargo, es de prioridad ambiental el desarrollo de técnicas y tecnologías que permitan aumentar el rendimiento en función del costo y disminuir el impacto que se pudiese producir en el medioambiente; enfocando esfuerzos en: parámetros de obtención, sustancias utilizadas y fuentes de obtención utilizables y presentes en nuestro país.

Una alternativa al método químico para la disminución del peso molecular promedio del quitosano podría ser usada con el fin eliminar las pérdidas por recuperación de su

masa y la disminución de la aplicación de compuestos químicos, como lo es la ultrasonificación de soluciones de quitosano (Baxter, 2004).

La aplicación del modelo de predicción estadístico obtenido en este trabajo solo es aconsejable para los rangos y variables de estudio; no obstante, se podría aplicar en otros casos, con el propósito de tener una idea exploratoria del comportamiento del quitosano en otro tipo de aguas residuales con contaminantes petroleros o no petroleros, utilizando la metodología experimental practicada.

El proceso de clarificación en el tratamiento de agua para consumo humano y de origen residual debería ser estudiado más a fondo con el fin de promover el uso de sustancias abundantes en la naturaleza con poder floculante y disminuir el uso de coagulantes y floculantes que al estar presente en forma de trazas resultarían nocivas para la salud (Perl & Brody, 1980); garantizando así el uso y consumo de agua de calidad que no permita el deterioro de la salud de las personas.

Los centros de producción y comercialización de productos derivados de origen petrolero deberían contar con alternativas de tratamiento de sus aguas residuales para el control de situaciones esporádicas fuera de sus parámetros de diseño para poder contribuir con un ambiente más sano y fuera de contaminantes nocivos.