



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO



**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA E
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**“APLICACIÓN DEL QUITOSANO OBTENIDO DE LOS
EXOESQUELETOS DE LANGOSTINOS (*Litopenaeus
vannamei*) EN LA REDUCCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN
DE NITRATOS DE AGUAS DE POZO DE LA COMUNIDAD
DE CHAULLACOA – CUTERVO”.**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO

PRESENTADO POR:

Bach. CONTRERAS MEDINA, KEYLA XIOMERY.

Bach. HEREDIA MATTA, VICTOR HELI.

ASESORADO POR:

M. SC. JUAN CARLOS DÍAZ VISITACIÓN.

**LAMBAYEQUE – PERÚ
2017**

**“APLICACIÓN DEL QUITOSANO OBTENIDO DE LOS
EXOESQUELETOS DE LANGOSTINOS (*Litopenaeus
vannamei*) EN LA REDUCCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN
DE NITRATOS DE AGUAS DE POZO DE LA COMUNIDAD
DE CHAULLACOA – CUTERVO”.**

**TESIS
PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO**

PRESENTADO POR:

Bach. CONTRERAS MEDINA, KEYLA XIOMERY.

Bach. HEREDIA MATTA, VICTOR HELI.

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ing. Dra. TARCILA AMELIA CABRERA SALAZAR
Presidente

Ing. M. Sc. RUBEN ENRIQUE VARGAS LINDO
Secretario

Ing. M. Sc. RODOLFO PASTOR TINEO HUANCAS
Vocal

Ing. M. Sc. JUAN CARLOS DIAZ VISITACIÓN
Asesor

DEDICATORIA

Al Creador de todas las cosas, que me da la fortaleza para seguir adelante ante cualquier situación, por ello con toda la humildad que mi corazón pueda emanar dedico mi trabajo en primer lugar a Dios.

Hermes Contreras Heredia:

Por el apoyo constante y desmedido que me brindas siempre para cumplir mis objetivos y para seguir adelante a pesar de las adversidades.

Gracias Papá.

Nivia Medina Rojas:

Sin tu amor, paciencia, compromiso y apoyo en mi vida y a lo largo de la carrera no lo hubiera logrado.

Gracias Mamá.

Nayla Leonor Contreras Medina:

Quien es el motor de mi vida para caminar hacia el éxito en el día a día, y que a pesar de su corta edad ha estado siempre cuidando de mí.

Gracias Hermana.

Leonor Heredia Llatas:

Que es mi ángel y guía de mis pasos en este trayecto de mi vida, por haberme dado lo mejor de ella y cuidado con tanta ternura.

A mi familia en general por brindarme su apoyo y compartir conmigo buenos y malos momentos.

Atte. Keyla Xiomery Contreras Medina

A Dios

Por darme otra oportunidad y llegar hasta este esencial momento y permitirme a partir de hoy proseguir con mis metas futuras trazadas.

Mirta Edith Matta Coronado:

Te dedico a ti madre este trabajo con un cariño especial, ya que eres una de las personas más generosas que me ha apoyado a lo largo de mi vida.

Helí Hernán Heredia Sánchez:

Gracias padre por tus sabios consejos y apoyo incondicional que me has prestado en diversas circunstancias de la vida.

Cristian Luis Heredia Matta y Yohany Lizeth Heredia Matta:

Gracias hermanos por otorgarme grandes alegrías y representar esa chispa de motivación para seguir adelante.

A mis abuelos:

Ya que son mis segundos padres que también participaron en mi formación personal inculcándome valores y principios.

Atte. Victor Heli Heredia Matta

AGRADECIMIENTO

En primer lugar nos gustaría agradecer a Dios, que con su infinita sabiduría nos iluminó en los momentos de adversidad para poder hacer posible este trabajo.

Hacer un agradecimiento destacado a nuestro asesor M. SC. Juan Carlos Díaz Visitación por su apoyo durante todo el transcurso de la elaboración de nuestra tesis y a la M. SC. Blanca Margarita Romero Guzmán por su apoyo en la aportación de ideas que motivaron nuestro trabajo de investigación.

De igual manera al personal del laboratorio de la facultad FIQUIA, que puso a su disposición sus instalaciones las cuales fueron fundamental para el desarrollo de este trabajo de investigación.

Para ellos, muchas gracias por todo.

ÍNDICE

LISTA DE CUADROS.....	8
LISTA DE FIGURAS.....	8
LISTA DE GRÁFICOS.....	8
LISTA DE TABLAS	9
RESUMEN	10
ABSTRACT.....	11
INTRODUCCIÓN	12
PARTE TEÓRICA.....	14
1.1 El Langostino o camarón patiblanco (<i>Litopenaeus vannamei</i>):	15
1.2 Quitina:.....	23
1.3 Quitosano:	28
• Usos y aplicaciones.....	31
• Métodos de extracción del quitosano.....	32
1.4 Propiedades fisicoquímicas de la quitina y el quitosano.	36
MATERIALES Y MÉTODOS	48
RESULTADOS	57
DISCUSIÓN	60
CONCLUSIONES.....	62
RECOMENDACIONES	64
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	66
ANEXOS.....	72

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Taxonomía de los langostinos (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	17
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura externa del langostino.....	18
Figura 2. Estructura Química de la Quitina	24
Figura 3. Estructura Química del Quitosano.	29
Figura 4. Reaccion quimicas para obtener el quitosano.	33
Figura 5. Reacción de desacetilación enzimática descrita	34
Figura 6. Interacciones de Van der Waals de iones nitrato y quitosano.....	47

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Cosecha Peruana de Langostinos (toneladas).....	16
Gráfico 2. Exportaciones Peruanas de Langostinos (dólares).	21
Gráfico 3. Participación en el Valor de las Exportaciones Peruanas de	22
Gráfico 4. Proyección de la acuicultura peruana para el 2015 al 2018.	23
Gráfico 5. Valoración potenciométrica con NaOH al 0.1 M.....	77
Gráfico 6. Primera derivada del pH vs primera derivada del volumen.	77
Gráfico 7. Línea de Concentración Vs Absorbancia hallado a una Longitud de Onda de 220 nm.	82
Gráfico 8. Tendencia lineal de la absorbancia con una longitud de onda de 275 nm.....	85
Gráfico 9. Comparación entre concentraciones de nitratos en agua de pozo antes y después de la aplicación de quitosano.....	91
Gráfico 10. Diferentes muestras de agua de pozo y su respectivo pH.....	91

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Estados larvales del camarón.....	19
Tabla 2. Composición química del exoesqueleto de camarón	20
Tabla 3. Principales características de las quitinas desacetilasas más estudiadas.	35
Tabla 4. Propiedades generales de la quitina y el quitosano.	36
Tabla 5: Contaminantes más comunes de los recursos hídricos peruanos.	40
Tabla 6: Adsorbentes utilizados para la eliminación del nitrato del agua. ...	47
Tabla 7. Resultados de la prueba de solubilidad de la muestra de quitosano en diferentes compuestos.....	58
Tabla 8. Comparación del quitosano comercial con el quitosano obtenido .	58
Tabla 9. Comparación de las concentraciones de nitratos antes y después de agregar el quitosano.	59
Tabla 10. Titulación Potenciométrica Para la Desacetilización del Quitosano	74
Tabla 11. Resultados del grado de desacetilización para la muestra de quitosano.	78
Tabla 12. Soluciones intermedias para determinar la curva de calibración.	81
Tabla 13. Absorbancia a una longitud de onda de 220 nm.	82
Tabla 14. Determinación de la Varianza a una Longitud de Onda de 220 nm.	83
Tabla 15. Absorbancia a una longitud de onda de 275 nm.	84
Tabla 16. Determinación de la Varianza a una Longitud de Onda de 275 nm.	85

RESUMEN

En el presente trabajo se investigó la reducción de la carga contaminante de nitratos presentes en muestras de agua de pozo obtenidas de la comunidad de Chaullacocha – Cutervo utilizando quitosano extraído de los exoesqueletos de langostinos *Penaeus Vannamei*.

Inicialmente se obtuvo quitosano a partir de los exoesqueletos de langostinos. Se empleó 133.53 gr de harina de exoesqueletos de langostino obteniéndose una cantidad aproximada de 26.3 gr de quitosano lo que representa un rendimiento del 19.7% en todo el proceso, el cual estuvo constituido de las siguientes etapas: Desmineralización, desproteinización y reacción de desacetilación de la quitina para obtener el quitosano. Para caracterizar el quitosano obtenido se verificó la humedad, cenizas y el grado de desacetilación por el método de titulación potenciométrica.

Se obtuvo ocho muestras del agua de pozo de la comunidad de Chaullacocha – Cutervo en intervalos de 15 minutos y se realizó el análisis del contenido de nitratos con la ayuda de un espectrofotómetro dando un valor promedio de 51.3 ppm. Se realizó una comparación con muestras de agua de pozo de las localidades de Pátapo y Jayanca.

Para medir la efectividad del quitosano, se adicionó 0.5 gr de este por cada 350 ml de agua a cada una de las muestras de agua pozo obtenidas. Se agitó durante 10 minutos a 150 rpm y luego se procedió a filtrar en un kitasato utilizando papel filtro grado 42, Whatman. El filtrado obtenido se sometió a un análisis de nitratos con ayuda de un espectrofotómetro.

Los resultados sugieren una disminución total promedio de nitratos en un 86.7 % después de la aplicación de quitosano en todas las muestras. Se concluyó que es efectivo.

ABSTRACT

In the present work we investigate the reduction of charge contaminant of nitrates in the well water samples obtained from Chaullacocha Community – Cutervo, utilizing quitosan from the exoskeletons of shrimp *Penaeus Vannamei*.

Initially we obtained quitosan from the exoskeletons of the shrimps. We use 133.5 gr of exoskeleton flour of shrimp obtaining and approximately quantity of 26.3 gr of quitosan which represent and overall performance of 19.7 % in all the process. The global process was made of the next steps. Demineralization, deproteinization y deacetylation reaction to chitin to obtain quitosan. To characterize the chitosan obtained, the potentiometric titration method was used.

Eight samples of well water from the Chaullacocha - Cutervo community were obtained at 15 minute intervals and the nitrate content analysis was performed with the aid of a spectrophotometer giving an average value of 51.3 ppm well water, a comparison was made with well water samples from the towns of Pátapo and Jayanca.

0.5 g of chitosan was then added per 350 ml of water to each of the well water samples obtained. It was shaken for 10 minutes at 150 rpm and then filtered into kitasato using filter paper grade 42, Whatman. The filtrate obtained was subjected to nitrate analysis using the spectrophotometer.

The results suggest an average total decrease of nitrates by 86.7% after application of chitosan in all samples. It is concluded that it is effective.

INTRODUCCIÓN

En el Perú existen ciertos centros poblados, sobre todo en las zonas rurales, donde la falta de servicios de agua potable ha persuadido a la población a buscar medios de abastecimiento de agua para su consumo.

Una de las fuentes utilizadas para abastecerse de agua son las llamadas norias (pozos de agua), más cercanas a sus comunidades. El problema de esas fuentes de agua es que se encuentran en sitios contiguos a campos de cultivo en los cuales se ha hecho uso excesivo de agroquímicos, estas sustancias están compuestas en su mayoría por nitrógeno que son necesarios para el crecimiento de las plantas. En el suelo este nitrógeno sufre una serie de reacciones hasta convertirlas en nitratos y estos por efecto de riego o de lluvia se infiltran a los pozos de agua (Edokpolo et al, 2016).

En el agua los nitratos se reducen y se convierten en nitritos, el cual es un compuesto toxico que constituye un peligro muy riesgoso para la salud de la población que la consume, ya que estos pobladores no tienen conocimiento del peligro potencial que esto conlleva (Yoneyama et al, 2003).

En la Comunidad de Chaullacocha del distrito de Cutervo se utiliza aguas de pozo (norias) la cual se determina que contiene nitratos con un contenido mayor que el permisible según el Decreto-Supremo-N°-015-2015-MINAM, llegando a valores mayores de 50 ppm de nitratos.

El problema que surge de la problemática presentada es determinar si el quitosano obtenido de los exoesqueletos de langostinos (*litopenaeus vannamei*) reducirá la concentración de nitratos de aguas de pozo de la comunidad de Chaullacocha.

Por tal motivo el trabajo de investigación se plantea el objetivo general de aplicar el quitosado obtenido de los exoesqueletos de langostinos (*litopenaeus vannamei*) para reducir la concentración de nitratos de aguas de pozo de la comunidad de Chaullacocha. Para lo cual considera los siguientes objetivos específicos: Obtener quitina de los exoesqueletos de langostinos, producir quitosano a partir de la quitina extraída, analizar la concentración de nitratos en muestras de aguas de diferentes pozos, aplicar el quitosano obtenido a las diferentes muestras de aguas de pozo y comprobar la eficiencia del quitosano en la reducción de nitratos en aguas de pozo.

El trabajo de investigación que se presenta es importante y se justifica ya que en la actualidad el langostino ha sido una de las especies marinas de mayor relevancia en las últimas décadas dentro del comercio internacional, no obstante su crecimiento solamente se ha desarrollado dentro de la línea comercial de su carne, mientras que su exoesqueleto es desperdiciado, con lo cual se malgasta la posibilidad de utilizarlo como fuente de un biopolímero ampliamente utilizado dentro de industria química llamado quitosano. Este biopolímero ofrece un robusto poder de adsorción, el cual le hace ideal para retener colorantes, hidrocarburos, metales pesados y aniones que se encuentran disueltos en las aguas que no han tenido un tratamiento previo. Es por ello la importancia de investigar la aplicación del quitosano obtenido de estos residuos para la adsorción y reducción de la concentración de nitratos en aguas de pozos que algunas comunidades peruanas hacen uso en la vida diaria, y así disminuir el índice de enfermedades a largo plazo.

Se concluye que los exoesqueletos de langostinos son eficientes en la disminución de la concentración de nitratos disueltos en aguas de pozos y que pueden ser aprovechados por la población que la requiera.

I PARTE TEÓRICA

1.1 El Langostino o camarón patiblanco (*Litopenaeus vannamei*):

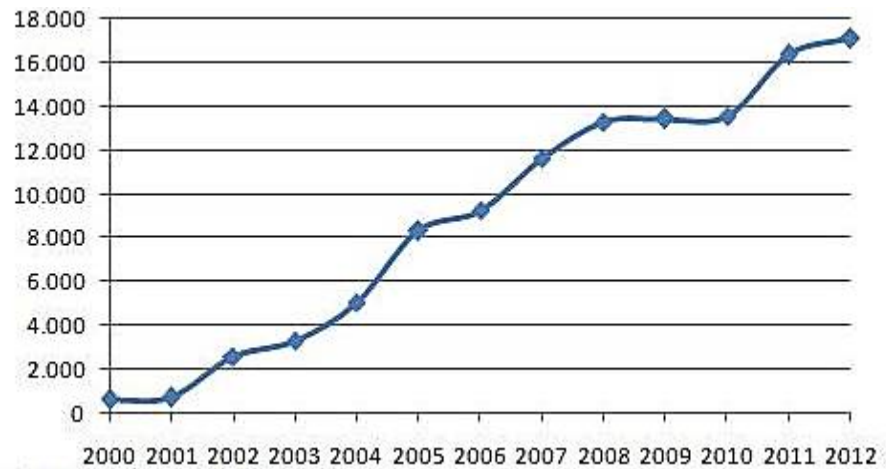
Generalidades:

El langostino, camarón patiblanco o también llamado camarón blanco del Pacífico ha sido la especie marina de mayor relevancia en las últimas décadas dentro del comercio exterior. En el Perú la cosecha de langostinos viene creciendo ininterrumpidamente desde el año 2000, en el año 2012 el crecimiento de la cosecha fue de 4,40% respecto al año anterior llegando a cosecharse 17.099 toneladas.

Es la principal especie de cultivo, en la costa peruana, esta especie es considerada una de las más resistentes a los cambios medioambientales durante el desarrollo en cautiverio. La región más importante en la producción de langostinos es la región Noroeste del Perú (especialmente la región de Tumbes), cosechándose en dicha región cerca del 86,77% del total cosechado a nivel nacional, es decir 13.164 toneladas de camarones patiblanco en el año 2015.

Es una especie bentónica que vive en fondos arenosos y que se encuentran entre 2 a 30 metros de profundidad del mar, su tipo de pesca puede ser artesanal, industrial y en granjas acuícola. Su cultivo comercial está confinado a las regiones tropicales y subtropicales.

Existe una gran mortalidad natural y por la pesca, sin embargo, la naturaleza los ha dotado de gran potencial reproductivo con el cual asegura la permanencia de la especie.

Gráfico 1. Cosecha Peruana de Langostinos (toneladas)

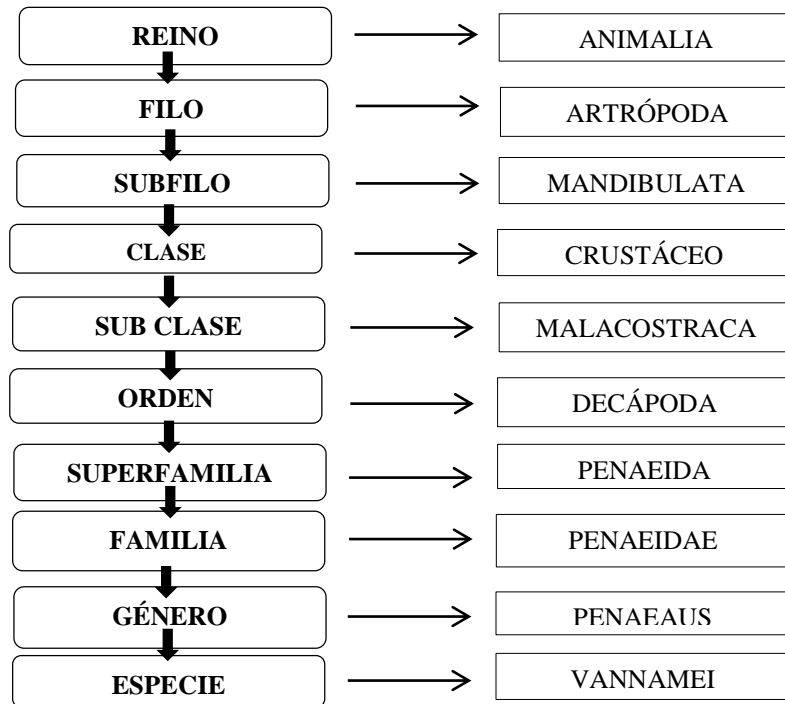
Nota: Tomado del Ministerio de la Producción (2012).

- **Historia.**

La primera reproducción artificial de esta especie se logró en Florida en 1973. A principios de la década del 80 y con el desarrollo subsiguiente de las técnicas para la cría intensiva se extendió a zonas de Centro y Sudamérica, transformándolo a una actividad comercial de esta especie en América Latina. La tendencia de rápido crecimiento, sin embargo está sujeta a cambios climáticos; con picos altos de producción como los ocurridos en épocas cálidas y húmedas, durante la presencia del fenómeno del Niño, y declives coincidentes con la irrupción de enfermedades durante los años fríos de presencia del fenómeno de “La Niña”. Las actividades acuícolas de estas regiones en general, están orientadas básicamente a la piscicultura del langostino.

- **Taxonomía.**

Cuadro 1. Taxonomía de los langostinos (*Litopenaeus vannamei*)



Nota: Elaborado por los autores.

- **Hábitat y biología.**

El langostino *Penaeus vannamei* es nativo de la costa oriental del Océano Pacífico, en aguas cuya temperatura es normalmente superior a 20 °C durante todo el año, aunque también suele encontrarse en hábitats marinos tropicales.

“Los langostinos adultos comen una gran variedad de alimentos, incluyendo moluscos poliquetos y otros crustáceos.” (Bautista Parejo, 1987).

Los adultos viven y se reproducen en mar abierto, mientras que las post-larvas migran a las costas a pasar la etapa juvenil, la etapa adolescente y pre adulta en estuarios, lagunas costeras y manglares. Los machos maduran a partir de los 20 gr. y las hembras a partir de los 28 gr. en una edad de entre 6 y 7 meses.

- **Morfología.**

El langostino posee un cuerpo alargado, cilíndrico y aplanado en los lados, en su parte superior, es mayor que la inferior como se observa en la siguiente ilustración. Su morfología consta de:

- Cefalotórax o cabeza.
- Abdomen o cola.
- Aparato digestivo.
- Aparato respiratorio.
- Aparato circulatorio.
- Aparato Reproductivo.
- El cerebro.

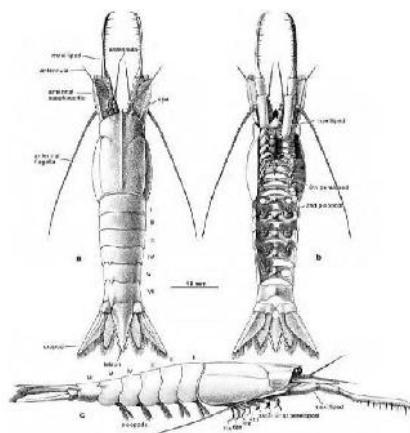


Figura 1. Estructura externa del langostino

- **Ciclo de vida.**

En el ciclo de vida de los camarones se consideran etapas para el desove en mar abierto. En el cual los óvulos expulsados son fecundados por los espermatozoides contenidos en el espermatóforos, previamente colocado por el macho en el abdomen de la hembra. Los huevecillos se hunden prontamente, y luego sobreviene el desarrollo larval que comprende 11 estados:

- 5 incluidos bajo el nombre de nauplio.
- 3 de protozoa.
- 3 de misis.

Dichos estados larvales preceden a la forma verdaderamente adulta conforme se detalla a continuación:

Tabla 1. Estados larvales del camarón

ESTADO		LARGO (en cm)
Huevo		0,2
Larva	Nauplio	0,3 – 0,6
	Protozoe	0,8 – 2,6
	Misis	3,2 – 4,4
Post-larva		4,0 – 24,9
Juvenil		25,0 – 89,0
Sub-adulto		90,0 – 139,0
Adulto		140,0

Nota: Tomada de Bautista Parejo, Crustáceos-Tecnología de cultivo (1987)

- **Desechos de langostino.**

Los residuos de langostinos generados en el Perú, después del procesamiento de este recurso pesquero han sido por mucho tiempo descartados al ambiente. En visita técnica a la zona de producción, observamos cómo se realizan esfuerzos por aprovechar los residuos

para utilizarlos como fertilizante o insumos para alimento animal, según algunos productores. Sin embargo, podrían estar aprovechando mucho mejor estos desechos.

- **Propiedades químicas.**

El caparazón del camarón está constituido por quitina, proteína, pigmentos y cenizas con un alto porcentaje de calcio, también contiene magnesio y fósforo como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 2. Composición química del exoesqueleto de camarón

Componentes	Porcentaje %
QUITINA	17-32
PROTEINAS	17-42
PIGMENTOS	1-14
CENIZAS	41-46

Nota: Tomada de Viñán Murillo, Aprovechamiento de residuos de camarón y cangrejo, para obtener quitina, quitosana y proteína con fines farmacéuticos (2005).

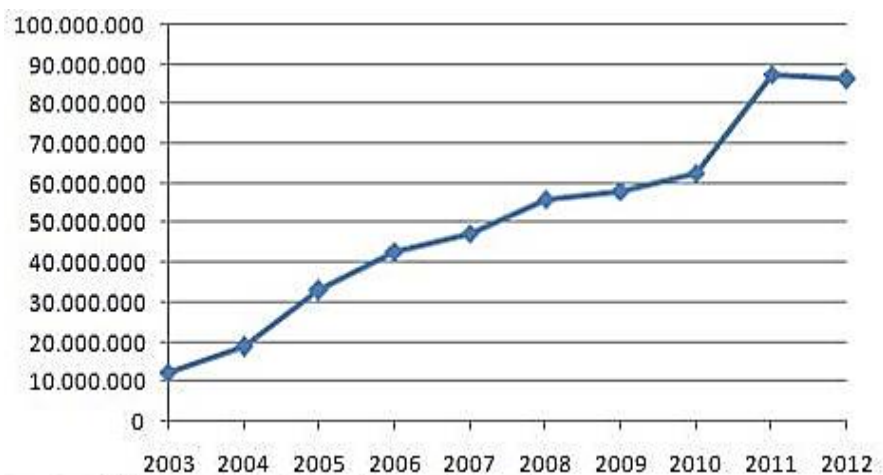
- **Mercado mundial y nacional.**

Según la FAO, la producción mundial de cultivo de camarón alcanzó 4,2 millones de toneladas métricas (MMT) en 2011 y luego aumentó a 4,3 MMT en 2012 (un 3,5 por ciento) y a un 4,5 MMT en 2013 (un 2,7 por ciento).

En América Latina el crecimiento más notable se prevé para el Ecuador, donde la producción se incrementará de 300.000 TM en 2013 a 370.000 toneladas en 2017.

La participación peruana en la producción mundial de langostinos en el año 2009 fue de 0,58%, en el gráfico N°2 de exportaciones Peruanas de langostinos se puede ver que el año 2012 hubo un leve descenso, el cual fue de 1,35%, exportándose el 2012 por un valor de US \$ 86.323.379.

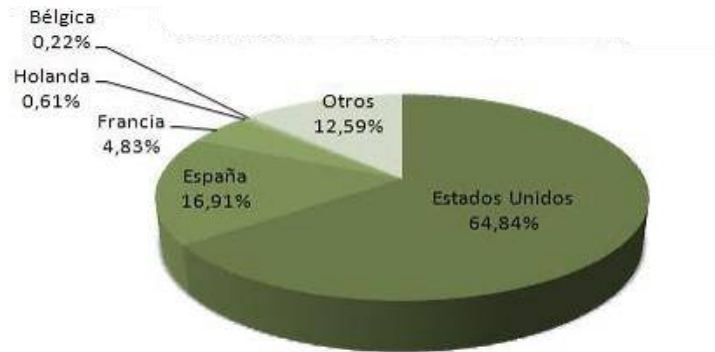
Gráfico 2. Exportaciones Peruanas de Langostinos (dólares).



Nota: Tomado del Ministerio de la producción (2012).

Como se puede ver en el gráfico, el principal destino de las exportaciones peruanas de langostinos fueron los Estados Unidos, España el segundo mercado destino de los langostinos peruanos representó el año 2012 la cuarta parte de las exportaciones hacia los Estados Unidos.

Gráfico 3. Participación en el Valor de las Exportaciones Peruanas de Langostinos (2012).

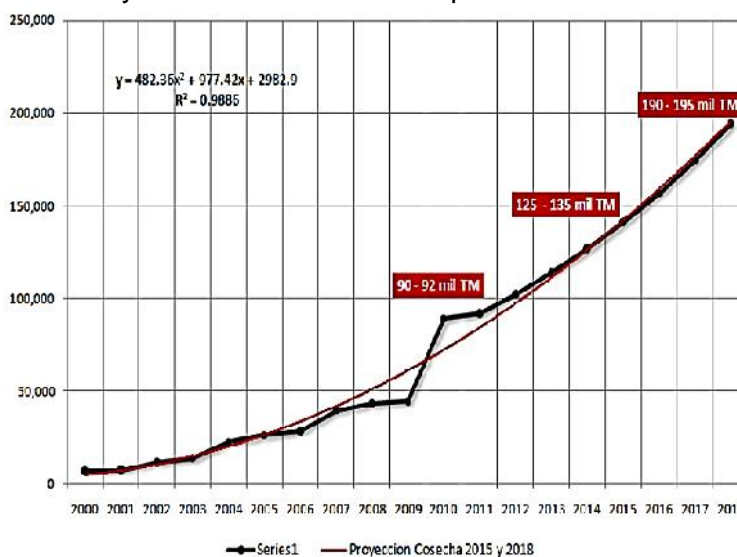


Nota: Tomado del Ministerio de la producción (2012).

De los principales destinos de las exportaciones peruanas de langostinos solo el mercado francés aumentó sus compras respecto al año 2012, el incremento fue del 57,57%.

Las exportaciones peruanas de langostinos sumaron US\$ 34.1 millones en el primer trimestre del 2015. El principal destino de los langostinos peruanos fue Estados Unidos con US\$ 21.6 millones.

Todo ello se tradujo en el incremento de sus precios. No obstante, al recuperarse estos mercados de esa enfermedad, en el primer trimestre del 2015 el precio de los langostinos disminuyó.

Gráfico 4. Proyección de la acuicultura peruana desde el 2017 al 2018.

Nota: Tomado del Ministerio de la producción.

1.2 Quitina:

- **Definición y Estructura Química.**

La quitina es un biopolímero sumamente abundante en la naturaleza pues forma parte del exoesqueleto de los artrópodos (el grupo animal más diverso y abundante del planeta, que incluye a los insectos, crustáceos y arácnidos). También puede encontrarse en el tejido estructural de algunas especies de moluscos, hongos y microalgas.

La quitina fue aislada, identificada y nombrada gracias a investigaciones realizadas por Bracconnot, Odier, Children y otros a principios del siglo XIX. El nombre quitina proviene de la palabra en griego (χιτών, kithon) para túnica, cubierta o envoltura, y se nombró así al ser identificado como un componente principal de los caparazones de insectos. Y, efectivamente, la quitina es un compuesto cuya principal función en la naturaleza es estructural. Esto es, forma parte esencial de tejidos que dan soporte y protección al cuerpo del organismo.

La presencia de la quitina en la naturaleza se asume desde la aparición de los artrópodos. La muestra más antigua de quitina con la que se cuenta pertenece a un escorpión atrapado en ámbar del Oligoceno, con una edad aproximada de 25 millones de años. Todo ese tiempo ha permitido que la naturaleza pueda crear una amplia variedad de estructuras a base de quitina. Desde delicadas membranas de la cutícula de algunas larvas, hasta materiales considerados entre los más fuertes de origen biológico (caparazones, tenazas, dientes).

Desde el punto de vista químico la molécula de quitina es muy parecida al de la celulosa. Ambas cumplen funciones similares en la naturaleza, la celulosa en plantas y la quitina en animales y ambas están entre las moléculas de origen biológico más abundantes del planeta. La quitina es un polisacárido formado por unidades de N acetil glucosamina unidas por enlaces glicosídicos. Su nombre formal sería polímero lineal de 2-acetamido-2-desoxi-D-glucopiranososa unido por enlaces β (1-4). Las características químicas y físicas distintivas de la quitina, como la presencia de los grupos amida, el tamaño y relativa rigidez de las moléculas son la base de sus propiedades funcionales.

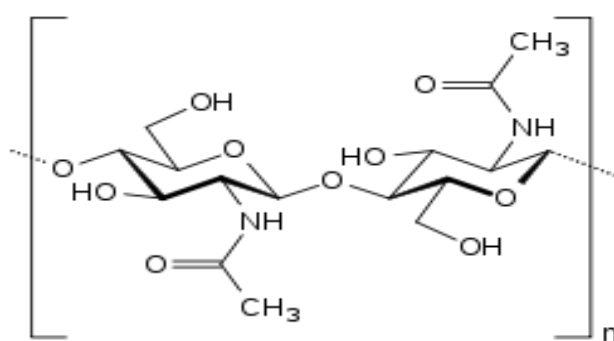


Figura 2. Estructura química de la quitina.

- **Propiedades.**

Entre las principales propiedades de la quitina tenemos que no es soluble en agua ni en la gran mayoría de los solventes comunes, es biodegradable, biocompatible, absorbente y puede reaccionar en ciertas condiciones para formar compuestos derivados. Mención especial merece la capacidad de la quitina de formar distintos tipos de materiales por si misma o en combinación con otros compuestos, tal como funciona en la naturaleza. Sin embargo, disponemos de muy pocas estructuras de quitina formadas naturalmente que podamos usar directamente como lo hacemos con la madera o las fibras de algodón por ejemplo y la dificultad que presenta disolver la quitina limita su uso en muchas aplicaciones. La estrategia que se usa para poder disolverlo más fácilmente es modificar sus características químicas. Esto puede hacerse ya sea modificando su peso molecular, reduciendo el tamaño de la molécula hasta que se favorezca la disolución o mediante la forma más común que es eliminando la mayoría de los grupos acetilos (desacetilación) para obtener quitosano, que se disuelve en soluciones acuosas ácidas.

- **Usos y aplicaciones.**

Se ha mencionado anteriormente que la quitina por su insolubilidad no es muy útil, sin embargo sus derivados suelen tener muchas aplicaciones: Para contrarrestar distintos problemas en distintos campos como en la agricultura, tecnología del medio ambiente, industria farmacéutica, ingeniería de tejidos, en medicina, etc.

Una interesante aplicación práctica del análisis de quitina como tal, se utiliza para evaluar la contaminación de hongos en materiales como plantas, madera, granos, hojas, raíces; debido al interés de identificar dicha contaminación sin la necesidad de separar los hongos del tejido vegetal. Una muestra se hidroliza y luego se analiza químicamente por

los productos de la degradación de la quitina, la *N*-acetil-D-glucosamina, utilizando entre otras técnicas, enzimas específicas como la Chitobiose (*N*-acetilglucosaminidasa).

- **Métodos de extracción de la quitina.**

- **Químico.**

La obtención de la quitina en la industria a partir de crustáceos se lleva a cabo mediante procesos químicos sucesivos de desproteinización en medio alcalino, desmineralización en medio ácido y blanqueo mediante agentes decolorantes, el orden de los dos primeros pasos dependen de los subproductos que se deseen obtener.

Las proteínas se extraen generalmente con la ayuda de soluciones alcalinas de NaOH o KOH, aunque también se han utilizado soluciones de Na_2CO_3 , NaHCO_3 , K_2CO_3 , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, Na_2S , CaHSO_3 y Na_3PO_4 . La efectividad de la desproteinización depende de la temperatura, la concentración del álcali y la proporción del desecho en solución, diversos estudios han probado concentraciones que varían entre 1M -4M a temperaturas de 25 - 100°C y tiempos desde 0.5 a 72 horas, sin embargo, las altas concentraciones de álcali y altas temperaturas de reacción, pueden producir la desacetilación y degradación de la quitina.

En el caso de la desmineralización, diferentes tipos de ácidos fuertes como (HCl, HNO_3 o H_2SO_4) o débiles (CH_3COOH , HCOOH) han sido utilizados. El objetivo es la solubilización del carbonato de calcio. Las concentraciones evaluadas varían desde 0.2M a 6 M a temperaturas de -20°C a 100°C, estudios han demostrado completa desmineralización del desecho cuando la concentración del ácido es estequiométricamente mayor que la de la cantidad de minerales. El blanqueo de la quitina solo se realiza cuando es indispensable tener un

producto completamente puro, ya que el pigmento no afecta la influencia del comportamiento del polímero en solución, su reactividad o propiedades fisicoquímicas. Por lo general para el blanqueo se utilizan soluciones de hipoclorito de sodio, acetona absoluta, cloroformo, peróxido de hidrógeno, acetato de etilo, etanol o una mezcla de ellos.

Una de las grandes desventajas del método de purificación químico de la quitina, es la alta consumación de energía además de la producción de desechos corrosivos de ácido y álcali que contaminan el ambiente y tienen que ser tratados, además de producir una fuerte degradación del polímero. Otra gran desventaja es que las proteínas extraídas mediante estos métodos no pueden ser reutilizadas ya que pierden valor debido a la formación de lisinoalanina y otros derivados de aminoácidos.

- **Microbiológico.**

Estudios bioquímicos y estructurales durante los ciclos de desarrollo de crustáceos sugieren la degradación de la vieja cutícula mediante hidrólisis de las proteínas y la quitina mediante diversas enzimas, los productos obtenidos son recuperados y reutilizados para la síntesis de la nueva cutícula, el carbonato de calcio también es solubilizado y reabsorbido durante el mismo ciclo, esto mediante la acción de enzimas carbonic anhidrasa y algunas fosfatasas. Debido a que es evidente la eficiencia de mecanismos biológicos en la desmineralización, desproteinización e hidrólisis de la quitina en la naturaleza, diversos estudios se han enfocado en la utilización de métodos biológicos para la extracción de quitina como una alternativa al método químico.

Existen estudios en los que se han evaluado enzimas enfocadas en la hidrólisis de las proteínas ligadas al desecho, proteasas adicionadas, propias al desecho o producidas por microorganismos internos. El uso

de fermentaciones busca solubilizar los minerales ligados al desecho mediante la producción de ácidos orgánicos así como utilizar las enzimas provenientes de vísceras presentes en el desecho para eliminar las proteínas. Por su parte la mezcla de diferentes microorganismo en co-fermentaciones busca no solo solubilizar el carbonato de calcio sino a su vez favorecer la hidrolisis de las proteínas mediante producción de enzimas.

1.3 Quitosano:

- **Definición y estructura química.**

El quitosano (también conocido como quitosana o quitosan) es el polímero lineal formado predominantemente por unidades de glucosamina, que es forma desacetilada de la N-acetil glucosamina, la unidad que forma la quitina. Por la forma en que comúnmente se produce, el quitosano puede considerarse un derivado de la quitina. Desde otro punto de vista puede considerarse a la quitina y al quitosano como una sola familia de moléculas poliméricas formadas por unidades de N-acetil glucosamina y de glucosamina. Así se llama quitina a las moléculas donde la N-acetilglucosamina es predominante y quitosano cuando la glucosamina es mayoría. El grado de acetilación es un parámetro que indica que proporción de cada tipo de unidad hay en una muestra. Este parámetro es sumamente importante pues está relacionado directamente con las propiedades del quitosano como solubilidad, bioactividad, capacidad de adsorción, entre otras. Tanto la quitina como el quitosano se encuentran en la naturaleza, pero la cantidad de quitina es abrumadoramente mayor. Es por esto que prácticamente todo el quitosano se obtiene a partir de quitina. En particular, se emplean los caparazones de camarones, cangrejos y langostas descartados durante su proceso industrial como materia prima para obtener quitina y posteriormente quitosano.

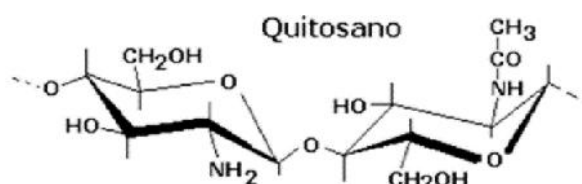


Figura 3. Estructura química del quitosano.

- **Propiedades Físicas.**

Las propiedades del quitosano son muy similares a la celulosa, tanto en su estructura química como en su actividad. El peso molecular del quitosano varía entre 1×10^5 a $2,5 \times 10^6$ Da, con un pKa aproximado de 6,3. Es insoluble en agua, en ácidos concentrados, bases y los solventes orgánicos comunes, pero es soluble en ácidos minerales y orgánicos diluidos.

Debido a la presencia de grupos amino en la cadena polimérica, el quitosano es un material muy versátil. Tiene la capacidad de realizar varias modificaciones, como reacción con enzimas y obtención de películas biodegradables.

Debido a la presencia de grupos amino libres tiene la propiedad de protonarse y por lo tanto ser soluble en medio ácido, aumentando así su reactividad. Su característica principal es la inocuidad a la salud humana.

En ambientes ácidos permanece en solución hasta un pH cercano a 6,2 después del cual comienza a formar preci-pitados similares a geles hidratados. Cuando se solubiliza en ácido diluido funciona como un polímero catiónico de estructura lineal con una alta densidad de carga positiva, esta carga puede ser aplicada en procesos de floculación, en la

formación de capas e inmovilización de reactivos biológicos incluyendo enzimas.

El quitosano puede ser modificado químicamente con el fin de alterar sus propiedades físicas y químicas. Es posible la modificación química del grupo amino y de los hidroxilos primario y secundario.

Las modificaciones posibles incluyen su entrecruzamiento, eterificación, esterificación y copolimerización y debido a esta versatilidad ha encontrado muchas aplicaciones tecnológicas y biomédicas, las que incluyen la ingeniería de tejidos y esto debido a su biocompatibilidad, baja toxicidad y bio-degradación

Es una sustancia polimérica de origen natural y como posee la habilidad de captar lípidos, muy importante en el ámbito de la salud. El quitosano es un polisacárido catiónico y se une de forma electrostática a las moléculas con carga eléctrica negativa, formándose largos polímeros, que desde el punto de vista de salud y para pérdida de peso, no pueden ser atacados por los jugos gástricos y son eliminados directamente. Como otra propiedad interesante, el quitosano no es digerible.

Químicamente el quitosano está constituido por largas moléculas de glucosamina y moléculas de N-acetil-glucosamina, tiene alta capacidad de adsorción. Asimismo posee poder bacteriostático, inhibiendo el crecimiento microbiano con la gran importancia de poder formar films o películas comestibles.

- **Usos y aplicaciones.**

La presencia de grupos aminos en la cadena polimérica ha hecho del quitosano uno de los materiales más versátiles, por la posibilidad de realizar una amplia variedad de modificaciones, tales como la reacción de anclaje de enzimas, reacciones de injerto, obtención de películas entrecruzadas, etc, de las cuales se obtienen materiales con propiedades adecuadas para aplicaciones inmediatas y futuras en biotecnología, biomedicina, agricultura, etc.

- Aplicaciones biomédicas.
- Aplicaciones farmacéuticas.
- Aplicaciones en agricultura.
- Aplicación en los alimentos.
- Aplicación en tratamiento de aguas.

En esta última aplicación el quitosano cargado positivamente tiene la habilidad de combinarse con moléculas con cargas negativas. La eficiencia de este proceso depende básicamente del pH.

La quitina y el quitosano son usados para decolorar aguas residuales aprovechando la alta afinidad de estos polímeros con colorantes de diversos tipos.

La quitina y quitosano pueden usarse para remover efluentes con contenidos del orden de 10 a 50 ppm de metales como mercurio, cadmio, plomo y cobre. La eficiencia de este último proceso dependerá de condiciones como la concentración, la temperatura, el tamaño de partícula de la muestra y la calidad y la cantidad del biopolímero usado.

- **Métodos de extracción del quitosano.**

- **Químico.**

El quitosano se obtiene químicamente mediante la N-desacetilación de la quitina en medio alcalino (Figura 4), existen diferentes estudios en los que se han evaluado diferentes combinaciones de temperaturas, concentraciones y tiempos de reacción para favorecer y optimizar la reacción, sin embargo estos parámetros deben ser estrictamente controlados ya que influyen en el grado de acetilación, peso molecular distribución molecular y por consiguiente en las propiedades y aplicaciones del biopolímero resultante (Synowiecki *et al.*, 2003).

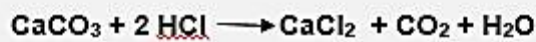
Existen dos tipos de desacetilación química: la desacetilación homogénea y la heterogénea, la primera se lleva a cabo a bajas temperaturas o a temperatura ambiente durante largos periodos de tiempo, con lo que se asegura la uniformidad de la reacción (Nemtsev *et al.*, 2002) y la distribución de los grupos acetil resultante es arbitraria.

La desacetilación heterogénea es aquella en la que se utilizan altas temperaturas (100 a 140° C) las cuales favorecen la velocidad de la reacción, sin embargo la desacetilación se da con mayor rapidez en las regiones amorfas del biopolímero que en las áreas cristalinas lo que proporcionan una distribución de bloque e impide una mayor desacetilación. La presencia de oxígeno durante la desacetilación influye en la degradación del polisacárido y da como resultado una disminución en la viscosidad y el peso molecular de los productos, estos cambios pueden ser limitados mediante la adición de nitrógeno o argón al medio. Existen pre tratamientos en los que se pretende la mayor penetración del NaOH en la quitina así como la reducción de la cristalinidad de la materia prima para asegurar la completa desacetilación. Algunos autores

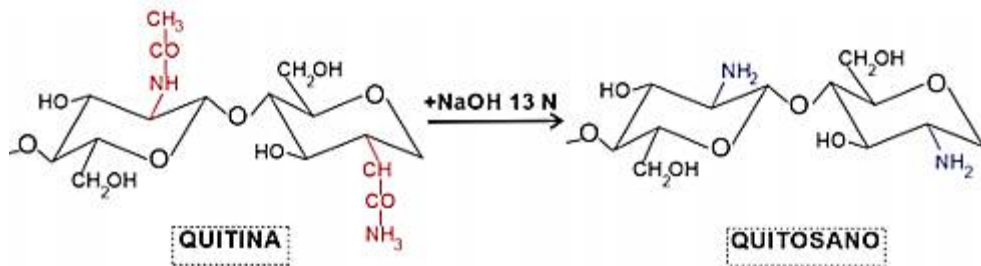
han propuesto la desacetilación completa mediante la repetición del proceso y evitando la presencia del oxígeno durante el mismo.

Figura 4. Reacciones químicas para la obtención de quitosano a partir de la quitina.

a)



b)



Nota: a) Reacción de desmineralización. b) Reacción de desacetilización (donde muestra las unidades de N-acetilglucosamina de la quitina reaccionando con un agente básico NaOH para formar el quitosano).

- Microbiológico.

Una alternativa o proceso complementario a la desacetilación química es el uso de enzimas desacetilasas, que favorecen a que el proceso sea controlado y no degradativo (Kafetzopoulos *et al.*, 1993).

Las enzimas que catalizan la conversión de la quitina a quitosano mediante la hidrólisis de los residuos de *N*-acetil glucosamina se denomina quitina desacetilasas abreviadas como CDA y clasificadas por la comisión de número de enzima (EC) como 3.5.1.41, donde el primer número la clasifica como enzima hidrolasa, que forma dos productos de

un sustrato por hidrólisis. Figura 5. La presencia de la actividad desacetilasa ha sido reportada en diferentes hongos e insectos así como en algunas especies de zigomicetos (Tsigos *et al.*, 2000).

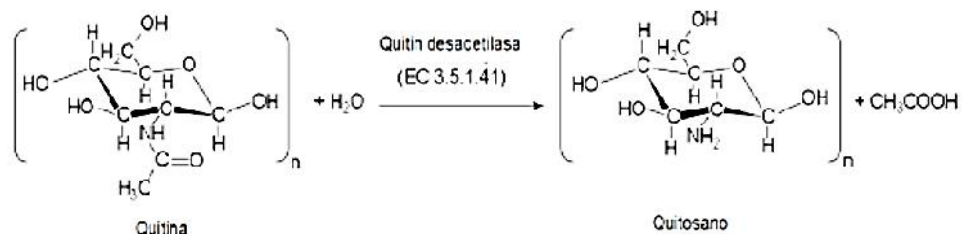


Figura 4. Reacción de desacetilación enzimática descrita por Tsigos *et al.*, 2000

Las quitinas desacetilasas son identificadas y parcialmente purificadas por extractos producidos por el hongo *Mucor rouxii*, posteriormente han sido aislados de hongos como: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Absidia coerulea*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus nidulans*.

Todas estas enzimas han sido reportadas como glicoproteínas secretadas intracelular o extracelularmente, presentan una termoestabilidad remarcable funcionando de manera óptima a 50°C, de acuerdo al peso molecular y el contenido de carbohidratos varían ampliamente al igual que el rango de pH óptimo.

Existen estudios en los que los genes que codifican a las CDA de *M. rouxii*, *S. cerevisiae*, y *C. Lindemuthianum* ATCC56676 han sido clonados para obtener una sobreproducción de la enzima para ser purificadas y caracterizadas. Las enzimas de *C. lindemuthianum* pueden actuar en la quitina natural mientras que las otras enzimas sólo pueden actuar en quitinas solubles, o parcialmente desacetiladas, además de no ser inhibidas por la presencia de acetato, sin embargo estudios en la producción y purificación de estas enzimas siguen en desarrollo.

La tabla 3 muestra las características principales de las quitinas desacetilasas extraídas de diferentes fuentes.

Estudios sobre la biosíntesis en hongos sugieren que la quitina sintetasa opera al mismo tiempo que la quitina desacetilasa, la primera enzima sintetiza a la quitina mediante la polimerización de residuos de *N*-acetilglucosaminil de uridina 5-difosfo-*N*-acetilglucosamina (UDP-GlcNAc) y la segunda hidroliza los grupos *N*-acetamido en las cadenas de quitina, actuando de manera más eficiente en la quitina cruda que en quitina microfibrilar.

Tabla 3. Principales características de las quitinas desacetilasas más estudiadas.

Microorganismo	Localización	Características				Referencia
		<i>M_w</i> (kDa)	Óptimos pH	Óptimos T(°C)	Inhibición de acetato	
<i>Mucor rouxii</i>	Intracelular	75	4.5	50	Si	Kafetzopoul os <i>et al.</i> , 1993
<i>Absidia coerulea</i>	Intracelular	75	5	50	si	Gao <i>et al.</i> , 1995
<i>Aspergillus nidulans</i>	Extracelular	27	7	50	no	Alfonso <i>et al.</i> , 1995
<i>C. lindemuthianum</i> (DSM 63144)	Extracelular	150	8.5	50	no	Tsigos <i>et al.</i> , 1995
<i>C. lindemuthianum</i> (ATCC 56676)	Extracelular	24	11.5	50	no	Tokuyasu <i>et al.</i> , 1996
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	Extracelular	55	7.5	55	no	Cai <i>et al.</i> , 2006
<i>Mortierella sp.</i>	Extracelular	50	5.5	60	no	Young-Ju <i>et al.</i> , 2008

Nota: Tomado de Neith Pacheco Lopez (2013).

1.4 Propiedades fisicoquímicas de la quitina y el quitosano.

Así como en todas las estructuras poliméricas, el *MW* y la distribución del mismo son parámetros que afectan las propiedades de la quitina y el quitosano en solución, que aunado al grado de acetilación (DA), juegan un papel importante en sus aplicaciones. La tabla 4 muestra intervalos de *MW*, DA, viscosidad y principales disolventes de la quitina y el quitosano.

Tabla 4. Propiedades generales de la quitina y el quitosano.

Propiedad	Quitina	Quitosano
Peso molecular (g mol^{-1})	1×10^6 a 2.5×10^6	10^5 a 5×10^3
Grado de acetilación	>40	0 a 40
Viscosidad (Cps) 1% en 1% Ac. acético	Non soluble	200 - 2000
Humedad (% p/p)	8-10	6-7
Solubilidad	DMAc-LiCl/TCA-MC	ácidos diluidos

Nota: Tomado de Neith Pacheco Lopez (2013).

- **Solubilidad.**

La quitina es insoluble en agua y en la mayoría de los disolventes. Para llevar a cabo la disolución de ésta molécula, es necesario introducir disolventes que induzcan las repulsiones entre las cadenas o desequilibren los puentes de hidrógeno intermoleculares presentes en el estado sólido. Los disolventes que pueden cumplir con este propósito son la hexafluoroacetona y la N, N-dimetilacetamida (DMAc) conteniendo 5-8 % LiCl. Recientemente, el metanol saturado con el cloruro de calcio dihidratado ha sido reportado como nuevo disolvente de la quitina utilizado anteriormente como disolvente para nylons.

El quitosano es insoluble en disolventes orgánicos puros, pero soluble en ácidos acuosos debido a la presencia de grupos amino libres que al ser protonados generan repulsiones en la cadena promoviendo la solubilización. Algunos ácidos orgánicos como el fórmico, acético, láctico, pirúvico y ácidos oxálicos con frecuencia son usados para su disolución. Ácidos minerales como ácidos hidroc্লóricos y nítricos también solubilizan al quitosano, sin embargo el ácido sulfúrico no es conveniente debido a las atracciones iónicas entre la cadena producida por el anión divalente del sulfato.

- **Grado de N- acetilación.**

Los grupos aminos de la quitina nativa se encuentra en forma acetilada, los cuales pueden estar unidos a cadenas proteicas o como aminos libres, no obstante durante los procesos comunes de extracción con ácidos y álcalis se produce una inevitable desacetilación. Las muestras de quitina presentan diferentes cantidades de grupos *N*-acetil que dependen del origen y el proceso de extracción del biopolímero, en general los grados de acetilación de la α -quitina extraída se encuentran entre 90 y 95%. Para poder preparar una quitina con estructura uniforme (poli *N*-acetil-glucosamina) se requiere una acetilación selectiva de quitina soluble o β -quitina.

En el quitosano el contenido de grupos *N*-acetil y la repartición de los residuos a lo largo de la cadena también dependen de las condiciones de desacetilación y las fuentes de la quitina de origen (Kurita *et al.*, 2006). El grado de acetilación es uno de los factores más importantes que influyen en las propiedades de este biopolímero debido al rol que juega en la solubilidad. Al incrementar el DA del quitosano acercándose al límite de 50%, el intervalo de pH en el que pueda ser soluble aumenta, lo cual se debe a la variación del pKa ocasionada por las propiedades polielectrolitas del mismo.

- **Peso molecular.**

El *MW* de la quitina natural es mayor a $1000 \times 10^3 \text{ g.mol}^{-1}$ y el del quitosano comercial se encuentra entre 100 y $500 \times 10^3 \text{ g.mol}^{-1}$ dependiendo de la quitina de origen. Distintos factores durante la extracción de la quitina y la preparación del quitosano pueden influenciar en el *MW* del biopolímero final. Altas temperaturas y concentraciones de ácidos y álcalis así como largos tiempos de reacción, pueden degradar y ocasionar depolimerización de las cadenas.

Diferentes autores han observado que el *MW* del quitosano tiene una influencia en su actividad biológica.

1.5 El agua y su contaminación:

El agua es una sustancia química común que está formada por tres pequeños átomos, uno de oxígeno y dos de hidrógeno (H_2O), con enlaces polares que permiten establecer puentes de hidrógeno entre moléculas adyacentes. Cerca del 97 % del agua de la tierra es salada y está contenida en los océanos. El 3 % de agua restante lo constituye el agua fresca. De esta agua fresca alrededor del 68.7 % está atrapada en los casquetes de hielo y glaciares, 30.1 % existe en forma subterránea, el 0.3 % en forma de agua superficial y 0.9 % en otras formas.

Todos los cuerpos de agua están interconectados, desde la atmósfera hasta los océanos a través del ciclo hidrológico. El agua circula naturalmente a través de los océanos, la atmósfera, lagos y ríos, glaciares y aguas subterráneas. El agua es uno de los elementos físicos más móviles que tiene el sistema Tierra. La circulación constante del agua desde los océanos a la atmósfera (evaporación), desde la atmósfera a la Tierra o de regreso a los océanos (precipitación) y desde

la Tierra a los océanos y atmósfera (evaporación y escorrentía) puede ser llamada el ciclo planetario del agua.

Con el transcurso del tiempo las comunidades humanas se han ido estableciendo cerca de fuentes de agua, puesto que esta se utiliza mayormente como un recurso vital indispensable, ya que permite realizar sus funciones vitales como preparar y cocinar sus alimentos, el logro de su higiene, usos domésticos, riego de los campos y para diferentes usos en la industria. Pero a la par estas sociedades han ido gradualmente aumentando el nivel de contaminación del agua a nivel mundial.

En el Perú el agua que procede de fuentes superficiales (ríos, lagos y aguas subterráneas), es objeto día a día de una severa contaminación, cuyas principales fuentes de contaminación son las siguientes: Vertimiento de aguas servidas, de basuras, de relaves mineros y de productos químicos (fertilizantes). Estas actividades agregan al agua sustancias ajenas a su composición, modificando la calidad de la misma y convirtiéndose en una amenaza latente para la salud humana. En la siguiente tabla se muestran los contaminantes frecuentes de estos recursos hídricos:

Tabla 5: Contaminantes más comunes de los recursos hídricos peruanos.

Físico – químicos	Inorgánicos	Orgánicos	Microbiológico
- Amoníaco. - Cianuro total. - Cloruros. - Color. - Conductividad. - Demanda química de oxígeno (DBO). - Dureza. - Fenoles. - Fluoruros. - Fosforo total. - Nitratos. - Nitritos. - Oxígeno disuelto. - Sólidos disueltos. - Sulfatos. - Temperatura. - Turbiedad. -Potencial de hidrogeno.	- Aluminio. - Antimonio. - Arsénico. - Bario. - Berilio. - Boro. - Cadmio. - Cobre. - Cromo total. - Hierro. - Manganeseo. - Mercurio. - Molibdeno. - Niquel. - Plomo. - Selenio. - Uranio. - Zinc.	-Hidrocarburos de petróleo. - Trihalometanos. - Bromoformo. - Cloroformo. - Dibromoclorometano. - Bromodiclorometano. - 1,1,1 – tricloroetano. - 1,1 –dicloroetano. - 1,2 – diclorobenceno. - Hexaclorobutadieno. - Tetraclorobutadieno. -Tetracloruro de carbono. - Benceno. - Etilbenceno. - Tolueno. - Xilenos.	- Coliformes totales. - Formas parasitarias. - Escherichia coli. - Microcistina – LR. - Vibrio cholerae. - Organismos de vida libre (algas, protozoarios, rotíferos, etc).

Nota: Ministerio de Ambiente del Perú, 2015.

- **Contaminación de agua por nitratos:**

Los nitratos (NO_3^-) son compuestos inorgánicos muy solubles en el agua, que se derivan del nitrógeno. Los aniones de nitrato son nutrientes necesarios de las plantas.

En las aguas superficiales, como los ríos, lagos y aguas de pozos la concentración de nitratos es habitualmente baja, es común encontrar niveles de nitratos que no sobrepasan las 5 a 10 mg/L.

Los nitratos no son en sí mismos tóxicos, pero representan un problema ambiental significativo cuando se producen en cantidades excesivas, en las aguas subterráneas estas concentraciones llegan a trepar a valores de 50 mg/L, 100 mg/L o superiores.

En los humanos se sabe que los nitratos se absorben rápidamente a nivel intestinal y se eliminan por orina. El peligro potencial de los nitratos radica en la eventual transformación en nitritos (NO_2^-) dentro del organismo. Esta transformación, que implica una reducción enzimática, puede ocurrir en la cavidad bucal y bajo ciertas condiciones, en el tubo digestivo.

El efecto más conocido producido por una alta concentración de nitritos en sangre es la transformación de la hemoglobina a metahemoglobina. La hemoglobina se encuentra presente en los glóbulos rojos de la sangre y es la encargada de transportar el oxígeno a todo el organismo. La metahemoglobina es un tipo de hemoglobina no funcional que por lo tanto no es capaz de transportar oxígeno.

Hasta cierto punto el adulto sano posee mecanismos de compensación de esta transformación de la hemoglobina producida por los nitritos, pero ciertas afecciones preexistentes pueden agravar considerablemente el riesgo por la ingesta de nitratos y nitritos. Como ejemplo podemos citar el caso de hipertensión, diuresis mal equilibradas, disfunciones gástricas que modifican las condiciones de reactividad de los nitritos a nivel del estómago, mujeres embarazadas con ciertas disfunciones enzimáticas, adultos que carecen de la enzima necesaria para revertir el proceso de la metahemoglobinemia (que puede ser hereditario), etc. En los bebés (especialmente los menores de cuatro a seis meses) los mecanismos de compensación no se encuentran lo suficientemente maduros, motivo por el cual son particularmente sensibles a la intoxicación por nitritos. En caso de intoxicación, la sintomatología tiene como rasgo característico

la cianosis (coloración azul de la piel y mucosas causada por oxigenación insuficiente de la sangre) que se hace perceptible cuando la metahemoglobinemia excede aproximadamente el 10% de la población de glóbulos rojos. Es lo que se conoce como "síndrome del bebe azul".

- **Fuentes de contaminación de nitratos en agua subterráneas**

El proceso de contaminación por nitratos en las aguas subterráneas puede ocurrir a través de dos fuentes: Las fuentes naturales y los desechos humanos. Las fuentes naturales son populares; sin embargo, su contribución es generalmente baja, porque los propios sistemas naturales han establecido equilibrios entre la producción y el consumo de nutrientes. Por el contrario, las fuentes humanas provienen de muchas actividades humanas como las actividades agrícolas o industriales.

Dentro de estas actividades humanas que producen contaminación tenemos: Fugas de líneas de alcantarillado, procesos industriales, incremento de la urbanización, fosas sépticas, motores de vehículos, intensivos ciclos de rotación agrícola con frecuentes taponamientos y extensas áreas de suelos desnudos durante los inviernos y actividades agrícolas (incluida la aplicación excesiva de abonos químicos, estiércol animal y compost).

Estas dos últimas formas de contaminación humana son las principales en cuanto a lixiviación de estos compuestos nitrificados. Los agricultores primero agotan el suelo por la "excesiva repetición de la siembra" y luego tratan de reponer el suelo menos productivo resultante, poniendo más y más fertilizante a base de nitrógeno en el suelo, en un intento de mantener el constante rendimiento de los cultivos. "Los agricultores siguen considerando a los fertilizantes nitrogenados, ya que encuentran en ellos algo seguro y barato contra las malas cosechas".

Obviamente, cuanto más fertilizante a base de nitrógeno un agricultor utiliza, mayor es la probabilidad de contaminación, puesto que estos agroquímicos se oxidan hasta llegar a convertirse en nitratos, que a su vez se filtran a las fuentes de agua subterránea más cercanas.

- **Métodos de remoción de nitratos**

Actualmente, se utilizan muchos procesos comerciales para la eliminación de nitratos, que incluyen procesos biológicos (desnitrificación autótrofa y heterótrofa), procesos químicos (reducción química, adsorción o intercambio iónico) y procesos físicos (electrodialisis u ósmosis inversa).

- **Método de desnitrificación biológica:**

La desnitrificación biológica se ha utilizado con éxito en la reducción de iones nitrato de aguas. En este proceso, el nitrato se convierte en gas nitrógeno por bacterias desnitrificantes en ausencia de oxígeno. El proceso general es la reducción de nitratos a nitrógeno gas y procede como sigue:



La desnitrificación puede lograrse utilizando tanto bacterias heterotróficas como autotróficas. Para el sistema de desnitrificación heterotrófica, se requiere un compuesto orgánico como fuente de carbono y energía. Estos carbonos orgánicos usualmente usados en el proceso de desnitrificación heterotrófica incluyen metanol, glucosa, acetato, etanol o ácido acético para proporcionar la energía necesaria para las bacterias. La mayoría de los sistemas desnitrificantes utilizan el metanol como fuente de carbono por razones económicas y

operacionales, pero en algunos países no está permitida en el tratamiento del agua potable. Recientemente, algunos investigadores también están explorando diferentes sustancias como el algodón, la paja de trigo, las virutas de madera, el aserrín y el plástico biodegradable como fuente de carbono orgánico. Para sistemas de desnitrificación autotróficos, se requieren fuentes de energía inorgánicas tales como azufre, especies de azufre reducido (por ejemplo, tiosulfato) o hidrógeno gas y el dióxido de carbono o bicarbonato como fuentes de carbono (Shams, 2010).

- **Método de intercambio iónico**

El intercambio iónico es un proceso que elimina los iones nitrato disueltos en aguas residuales intercambiándolas con iones cloruro sobre resinas de intercambio aniónico. Cuando se agota la capacidad de eliminación de nitratos de las resinas, se regenera usando una solución de cloruro de sodio de alta concentración para desplazar el nitrato sobre la resina. El intercambio iónico es un método potencial para eliminar el nitrato disuelto con alta eficiencia, operación simple y costo relativamente bajo. Sin embargo, este método sólo es adecuado para el tratamiento de agua con baja contaminación por nitratos debido a la cantidad de sal utilizada y el volumen de residuos. Se han ensayado varias resinas para la eliminación de nitratos tales como: Purolite A 520E; resina Amberlite IRN 9766; resina Indion NSSR; resina IND NSSR; resina Amberlite IRA 400; resina NDP-2, resina ALR-AE, zeolita recubierta con quitosano, resina Purolite A 520E y resina Purolite A 300 (Primo et al, 2009).

- **Método de ósmosis inversa (OI)**

El proceso de la ósmosis inversa se basa en la propiedad de membranas semi-permeables. La ósmosis inversa (en inglés RO) es un proceso de separación, en el cual una corriente de alimentación bajo presión es separado en un permeado purificado y una corriente concentrada. La presión requerida para forzar la penetración a través de la membrana está dictada por la presión osmótica de la corriente de alimentación. Las membranas son generalmente hechas de materiales tales como acetato de celulosa, poliamidas y materiales compuestos. En la práctica, esta técnica se utiliza generalmente también para la desalinización del agua, como también para el tratamiento de diversas aguas residuales.

- **Método de electrodiálisis**

La electrodiálisis es una tecnología que permite, bajo la influencia de un campo eléctrico continuo, extraer sustancias ionizadas disueltas en una disolución acuosa a través de membranas selectivas de intercambio iónico.

Cuando se aplica corriente eléctrica, los cationes pasan a través de las membranas de intercambio catiónico en una dirección y los aniones pasan a través de las membranas intercambiadoras de aniones en la otra dirección (Hell et al., 1998).

- **Método de adsorción**

La adsorción es un proceso por el cual átomos, iones o moléculas de gases, líquidos o sólidos disueltos son atrapados o retenidos en una superficie. Es decir, la adsorción es un proceso en el cual, por ejemplo, un contaminante soluble (adsorbato) es eliminado del agua mediante el

contacto con una superficie sólida (adsorbente). El proceso inverso a la adsorción se conoce como desorción.

El proceso de adsorción generalmente se considera el mejor medio en el tratamiento del agua debido a muchas ventajas, tales como facilidad de operación, genera poco lodo, simplicidad de diseño, y permite la recuperación de nitratos. Además, los adsorbentes también se pueden reciclar fácilmente y no contienen contaminantes nocivos en el componente. Además, este proceso puede eliminar o minimizar diferentes tipos de contaminantes orgánicos e inorgánicos de las aguas residuales y, por lo tanto, tiene una aplicabilidad más amplia en el control de la contaminación del agua.

Dependiendo del tipo de unión involucrada, la sorción se puede clasificar como sigue:

- **Sorción física (o fisisorción):** En la sorción física, no hay intercambio de electrones; al contrario, el adsorbato se adhiere a la superficie por las fuerzas relativamente débiles de Van der Waals. Debido a que las fuerzas de atracción son débiles, el proceso de adsorción física puede ser fácilmente invertido.
- **Sorción química (o quimisorción):** En la sorción química, los enlaces químicos formados implican un intercambio entre sitios de superficie específicos y moléculas de soluto. La quimisorción se caracteriza por energías de interacción entre la superficie y el adsorbato comparables a la fuerza de los enlaces químicos. Por lo tanto, la quimisorción es mucho más fuerte y mucho más estable que la fisisorción.

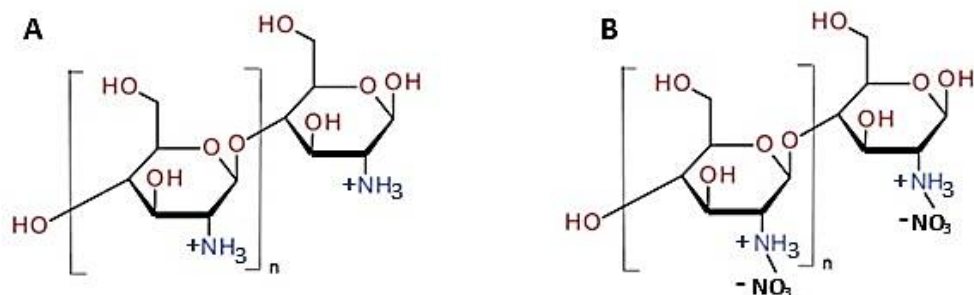
En la siguiente tabla se muestra algunos absorbentes típicos en la industria:

Tabla 6: Adsorbentes utilizados para la eliminación del nitrato del agua.

Absorbente	Concentración inicial de NO_3^-	Tiempo de contacto y pH de solución	Capacidad de adsorción
Carbón activado	100 mg / L	40 min, pH = 11.5	4.14 ppm NO_3^- / gr absorbente
Sepiolita	100 mg / L	48 horas, pH = 7	3.46 ppm NO_3^- / gr absorbente
Nanotubos de carbono (CNTs)	100 mg / L	24 horas, pH = 6.7-6.9	9.8 ppm NO_3^- / gr absorbente
Surfactantes modificados con arcillas minerales	100 mg / L	17 horas, pH = 5.4	64.76 ppm NO_3^- / gr absorbente
Zeolita modificada	110 - 600 mg / L	pH natural	71.5 ppm NO_3^- / gr absorbente

Nota: Elaborado por los Autores

Figura 6. Interacciones de Van der Waals de iones nitrato y quitosano



II

MATERIALES

Y MÉTODOS

Se utilizaron los siguientes materiales y reactivos:

2.1 Materiales

- Balanza analítica.
- Espectrofotómetro para trabajar con UV.
- Vasos precipitados de 500 ml.
- Agitador mecánico.
- Tubos de ensayo.
- Tamices.
- Espátula.
- Vagueta.
- Termómetro (rango entre -10 °C a 150 C°).
- Filtros de papel.
- Cocina eléctrica de laboratorio.
- Piseta.
- Pipetas.
- Estufa.

2.2 Reactivos

Todos los reactivos son de grado analítico, excepto se indique alguna especificación.

- Solución de NaOH 0,8 N
- Solución de NaOH 13 N.
- Solución de HCl 1,3 N.
- Solución de HCl 1.0 N.
- KNO₃ (99 % W).
- Agua destilada.
- Solución madre de nitrato. (Ver más abajo)
- Solución intermedia de nitrato. (Ver más abajo)

2.3 Procedimiento para la obtención de quitina

- Los exoesqueletos de langostinos se lavaron con abundante agua, y se separaron las patas, colas y residuos de carne, con el fin de eliminar la mayor cantidad de proteínas; además se pasó a retirar aquellos que estaban en proceso de descomposición.
- Los exoesqueletos se secaron en una estufa a una temperatura de 60 °C por un tiempo aproximado de 4 horas y 30 minutos, una vez secos, se llevó a cabo la trituración de los mismos con un molino a mano.
- El sólido remante se desmineralizó con una solución de ácido clorhídrico (HCl) 1.3 N mezclado en una relación de líquido – sólido 6:1, a una temperatura de 25 °C (temperatura ambiente) con una agitación mecánica constante por un tiempo de 1 hora, a una velocidad de 150 RPM.
- El sólido obtenido, quitina, se lavó con abundante agua destilada hasta un pH neutro y se filtró. Luego de esta operación la quitina se secó en una estufa a una temperatura de 50 °C por aproximadamente 2 horas y 30 minutos.
- La quitina se sometió a una segunda etapa de desproteización, se utilizó hidróxido de sodio (NaOH) a 0.8 N en una relación 3:1 líquido-sólido, a una temperatura de 80 °C con agitación mecánica constante por un tiempo de 4 horas, a una velocidad de 192 RPM.

- La quitina desproteínizada, fue lavada para remover las sustancias tanto alcalinas como ácidas con agua destilada hasta tener un pH neutro. Se secó esta quitina a 70 °C en una estufa por 3 horas.

2.4 Procedimiento para la obtención e identificación de quitosano

- La quitina desmineralizada y desproteínizada, se desacetilizó utilizando una solución de hidróxido de sodio (NaOH) a 13 N, por un tiempo de 10 horas con agitación mecánica constante a una velocidad de 200 RPM y a una temperatura de 100 °C.
- El sólido residual, quitosano, se lavó hasta la neutralidad con agua destilada y se secó a una temperatura de 70 °C por 4 horas y 25 minutos.
- Se volvió a pulverizar el quitosano seco, con el fin de obtener partículas más pequeñas para lograr una mejor área de contacto con los nitratos.
- La identificación de quitosano se hizo realizando una prueba de solubilidad en ácido acético al 5 %; se tomó 1 gr de quitosano y se agregó el ácido, quedando retenido luego del filtrado del mismo una proporción menor al 20 % en peso lo cual indicó la presencia de un buen producto. Además se utilizó otros solventes para potenciar la identificación del quitosano tales como: Agua, etanol y ácido clorhídrico.

2.5 Procedimiento para la caracterización del quitosano

Para identificar y evaluar las propiedades del quitosano se utilizaron los siguientes términos:

- **Porcentaje de humedad (% H)**

El porcentaje de humedad se determinó después de secar 4 gr de quitosano en lunas de reloj durante 3 horas y 10 minutos hasta alcanzar un peso constante en una estufa a temperatura controlada, el cálculo del porcentaje por diferencias de pesos es la siguiente:

$$\% H = \frac{PR (gr) - PV (gr)}{Q (gr)} \times 100$$

Donde:

PR: Peso de recipiente con muestra sin humedad.

PV: Peso de recipient vacío.

Q: Peso de la muestra de quitosano.

- **Porcentaje de cenizas (% C)**

Las cenizas de quitosano se determinó gravimétricamente, donde se colocó una muestra de 2 gr de quitosano en crisoles refractarios, para luego ser incinerado en un horno a una temperatura de 600 °C durante 6 horas para volatilizar todo el material orgánico. Se utilizó la siguiente formula:

$$\% C = \frac{\text{peso de crisol con cenizas (gr)} - \text{peso de crisol vacío (gr)}}{\text{peso de muestra (gr)}} \times 100$$

- **Grado de desacetilación (GD) de quitosano por valoración potenciométrica**

Para determinar el grado de desacetilación, se utilizó una muestra de 0.25 gr de quitosano que se disolvió en 20 ml de una solución de ácido clorhídrico 0.3 M y luego se cambia su pH por titulación con hidróxido de sodio 0.1 M previamente estandarizado. La valoración se lleva a cabo midiendo el cambio de pH cada 0.5 ml de base añadida hasta 50 ml de solución de NaOH, la adición se realiza de forma lenta y con agitación continua para homogenizar la solución y evitar errores debidos a la posible precipitación del biopolímero. Luego se graficó el cambio de pH contra la primera derivada ($\Delta\text{pH}/\Delta V$). El grado de desacetilación se calculó utilizando la diferencia entre los puntos de inflexión que se presentaron en la curva, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{GD} = \frac{16.1 (y-x)}{w} \times F$$

Dónde:

y = Es el punto de mayor inflexión.

x = Es el punto de menor inflexión.

F = Es la molaridad de la solución de NaOH.

w = Es el peso de la muestra

16.1 = Es un factor constante relacionado con el peso equivalente del quitosano.

- **Rendimiento total del proceso (% R)**

Se pesó las muestras de harina del exoesqueleto con la que se inició la investigación utilizando una balanza analítica que cuenta con una sensibilidad de 0.01 gr. Luego se pesó la muestra de quitosano obtenida durante todo el proceso. Para calcular el rendimiento total del proceso se aplicó la siguiente ecuación:

$$\% R = \frac{RR \text{ (gr)}}{RT \text{ (gr)}} \times 100$$

Dónde:

RT: Peso de harina neta de exoesqueleto de langostino.

RR: Peso neto sobrante de quitosano de todo el proceso.

2.6 Procedimiento para la determinación y reducción de la concentración de nitratos en las muestras de agua de pozo

- Se tomaron 8 muestras de agua de pozo de la comunidad de Chaullacocha – Cutervo con un tiempo promedio de recolección de 15 minutos; también se tomaron 2 muestras de agua de pozo del pueblo de Pátapo con un tiempo promedio de recolección de 20 minutos y 1 muestra de agua de pozo del Jayanca. Todas las muestras se depositaron en frascos de plásticos con una capacidad de 1000 ml.

- Todas las muestras de agua se almacenaron a una temperatura de 4 °C por no más de 48 horas.
- Para la elaboración de la solución madre de nitratos, se pesó 1.631 gr de KNO_3 previamente secado en una estufa a 105 °C durante 6 horas, se disolvió y enrasó con agua en un matraz aforado de 500 ml.
- La elaboración de la solución intermedia se realizó extrayendo 100 ml de la solución madre de nitrato y enrazándola con agua en un matraz aforado de 500 ml.
- Se utilizaron frascos volumétricos con volúmenes crecientes de 0 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml, 9 ml y 10 ml extraídos de la solución intermedia de nitratos, los cuales se enrasaron con agua destilada hasta un volumen total de 20 ml.
- La concentración de nitratos de los patrones intermedios se midieron con luz ultravioleta (UV) en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 220 nm, además se optó en mejorar la lectura de la concentración de los nitratos midiéndoles a otra longitud de onda de 275 nm para corregir los valores de la concentración de nitratos.
- Para evidenciar que la curva de calibración a una longitud de onda 275 nm era la correcta, se tomó una muestra 5 ml de solución intermedia enrazada hasta 20 ml con agua destilada que correspondió a una concentración de 50 ppm de nitratos. Se comparó las absorbancias del patrón intermedio (conocido) y la absorbancia de la curva de calibración. Se obtuvo un % Error = 3.84, el cual es menor al porcentaje de error permitido de $\pm 5\%$.

- Se graficaron ambas curvas de calibración, las cuales tuvieron un rango de 0 a 100 ppm de nitratos.
- Se colocaron 20 ml de agua de pozo a diferentes vasos de precipitado enumerándolos del 1 al 11 con sus respectivas procedencia; se le adicionaron 1 ml de HCl 1N y se dejaron reposar durante un periodo de 10 minutos, esto permitió que la materia orgánica disuelta, los carbonatos o nitritos que pudieran haber estado presentes en las muestras de agua no interfirieran en las lecturas del espectrofotómetro. Se tomaron las mediciones de las concentraciones de nitratos para cada una de las muestras de agua de pozo en el espectrofotómetro.
- A las muestras anteriormente mencionadas, se le añadieron 0.5 gr de quitosano por cada 350 ml de agua de pozo, se agitó durante 10 minutos y se filtraron para la medición de las concentraciones de nitratos en el espectrofotómetro en todas las muestras.

III

RESULTADOS

3.1 Identificación y solubilidades del quitosano obtenido

- Se observó que el quitosano presenta mejor solubilidad en el ácido acético.

Tabla 7. Resultados de la prueba de solubilidad de la muestra de quitosano en diferentes compuestos.

MUESTRA	AGUA	ETANOL	ÁCIDO ACETICO	ÁCIDO CLOHIDRICO
1	-	-	+++	++
2	-	-	++++	+++

Nota: - insoluble, + ligeramente soluble, ++ medianamente soluble, +++ soluble, ++++ completamente soluble.

3.2 Resultados sobre la caracterización del quitosano obtenido.

- Se observa que el quitosano obtenido en este trabajo se aproxima a las propiedades del quitosano comercial (quitosano Peackchem) y puede ser aplicado en el experimento.

Tabla 8. Comparación del quitosano comercial con el quitosano obtenido

Propiedades	Quitosano comercial	Quitosano obtenido
Porcentaje de humedad	4.52	8.75
Porcentaje de cenizas	0.91	1.5
Grado de desacetilación	70-100%	77.28

Nota: Elaborado por los autores.

3.3 Resultados sobre la concentración de nitratos antes y después de agregar quitosano a las muestras de agua de pozo.

- La siguiente tabla muestra los resultados de las diferentes concentraciones de nitratos en agua de pozo, antes y después de haber añadido quitosano.

Tabla 9. Comparación de las concentraciones de nitratos antes y después de agregar el quitosano.

Muestra	Lugar	Concentración de nitratos antes de agregar quitosano en la muestra de agua, ppm	Concentración de nitratos después de agregar quitosano en las muestras de agua, ppm	Porcentaje de reducción
1	Pátapo	40.11	5.67	85.86
2	Pátapo	37.60	4.88	87.02
3	Jayanca	52.90	6.20	88.28
4	Chauillacocha	47.23	5.41	88.55
5	Chauillacocha	62.27	8.97	85.59
6	Chauillacocha	58.58	7.65	86.94
7	Chauillacocha	64.91	10.16	84.35
8	Chauillacocha	41.16	4.22	89.74
9	Chauillacocha	38.79	6.07	84.35
10	Chauillacocha	66.36	8.44	87.28
11	Chauillacocha	54.35	7.65	85.92

Nota: Elaborado por los autores.

IV DISCUSIÓN

- En la tabla 7 se observó que el quitosano es insoluble en agua y etanol, pero presenta solubilidad en ácidos orgánicos (ácido acético) e inorgánicos diluidos (ácido clorhídrico) debido a que los grupos amino del polímero se protonan y dan como resultado un polisacarido soluble cargado positivamente $R-NH_3^+$ (Camacho, 2007).
- En la tabla 8 la comparación de los diferentes parámetros hechos en la caracterización del quitosano: Porcentaje de humedad, porcentaje de cenizas y grado de desacetilación obtenidos en el quitosano de esta investigación se aproxima al de un quitosano comercial (empresa Peakchem).
- El proceso de extracción tuvo un rendimiento del 19.7 % que equivale a 26.3 gr de quitosano por 133.53 gr de harina de exoesqueleto de camarón procesado, siendo un porcentaje menor al logrado por Lara (2016) que obtuvo un rendimiento de 30.54 %, con respecto al grado de desacetilación se obtuvo un valor 77.28 % contra un grado de desacetilación de 73.03 %.
- En investigaciones referentes a la remoción de iones nitratos, Husain y Rahane (2013), concluyen que el quitosano obtenido es capaz de remover nitratos usando 0.5 gr de quitosano / 350 ml de muestra de agua, además deducen que el mejor pH es aproximadamente de 5.5 – 6.5 para la adsorción de nitratos, el cual es viable ya que la mayoría de nuestras muestra se encuentran en el rango anteriormente mencionado.

V

CONCLUSIONES

- Existen a nuestro alcance un sin número de compuestos químicos y sustancias consideradas como desechos, pero con un análisis profundo estas pueden ser estudiadas, aprovechadas y utilizadas para el beneficio de la sociedad.
- Un cuidadoso proceso de desmineralización y desproteización, para la obtención de la quitina a partir de los exoesqueletos de langostinos, conduce a una reacción de desacetilación óptima.
- Se demostró que la remoción de hasta un 87.2 % de la carga contaminante de la concentración de nitratos es un método viable producido por la adición de 0.5 gr de quitosano por cada 350 ml de agua de pozo.
- El quitosano obtenido químicamente a partir de los exoesqueletos de langostino tuvo un rendimiento general de 19.7 % y un grado de desacetilación de 77.28 % medido a partir de titulación potenciométrica, refleja que es un polímero propicio, barato y eficaz que cumple con los estándares de cualquier compuesto adsorbente, el cual no sólo debe ser utilizado por los pobladores de Chaullacocha, si no también debería ser aprovechada por todas los pueblos que se abastecen directamente de aguas de pozos con altos niveles de nitratos y contaminantes.

VI RECOMENDACIONES

- En las etapas de desprotenización y desmineralización de la quitina es necesario disminuir mucho más el tamaño de las partículas de los exoesqueletos de langostino para que haya una superficie más amplia de contacto y se produzca mejores reacciones con el HCl y NaOH.
- Es recomendable hacer uso de un agitador magnético que tenga incorporado un termómetro de alto rango para aumentar el rendimiento de extracción de quitosano.
- Se debe contar con medio de filtración oportunos para evitar pérdidas de quitosano.
- Para acelerar la etapa de filtración es necesario utilizar bombas de vacío.
- Para obtener un grado de desacetilación de quitosano más preciso, se debe contar con espectrofotómetro de rayos infrarrojos con transformada de Fourier, ya que estos interactúan directamente con los grupos funcionales del quitosano y la quitina.
- Se debe tomar las muestras de aguas de pozos de manera rápida.
- Los recipientes que contengan las muestras de agua deben estar cerradas herméticamente y no dejar pasar más de tres días después de haber recogido las muestras para su análisis de nitratos.
- En el análisis de la concentración de nitratos, las soluciones madres e intermedias deben hacerse *in situ*.

VII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- **Abram** Pastor, A. (2004). *Quitina y Quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones*. Perú: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. pp. 312.
- **Agulló**, et al. (2004). *Fuentes y procesos de obtención de Quitina y Quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones*. Lima, Perú: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú (Primera edición ed., pp. 113).
- **Arias**, Ó. y Mendoza, A.M. (2010). *Caracterización mecánica de un polímero de origen natural derivado de cefalotórax y exoesqueletos de camarón* (tesis profesional). México DF. : Universidad Nacional Autónoma de México.
- **Bárcenas**, E. (2010). *Biopolímeros de cefalotórax y exoesqueleto de camarón. Uso de aditivos químicos para modificar sus propiedades mecánicas* (tesis profesional). México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- **Barrera**, S., Flores, R y Durán, M. (2007). *Extracción de quitina del cefalotórax de camarón para la elaboración de películas*. México D.F: Serie de Tecnologías más limpias, Vol. 10, 2ª ed.
- **Cabarcas**, M., Marimon, W. y Miranda, M. (2011). *Diseño de un proceso económico y competitivo para la extracción de quitina y producción de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón*. Cartagena de Indias: Facultad de ingenierías: Universidad de Cartagena.
- **Caldera**, Y., et al. (2009). *Quitosano como coagulante durante el tratamiento de aguas de producción de petróleo*. Maracaibo, Venezuela: Boletín del Centro de Investigaciones biológicas, pp. 43, 541-555.

- **Camacho**, V. (2007). Obtención de quitosano por desacetilación de quitina via enzimática (Trabajo de Grado), Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas: Instituto Politécnico Nacional, México.
- **Cañipa**, A., et al. (1998). *Producción de pigmentos, quitina y quitosana a partir de residuos de la industria camaronera. Parte 1: separación química de pigmentos y quitina y producción de quitosana*. México: Industria Alimentaria, pp. 28-38.
- **Cardoso**, M., Signini, R. y Campana, S. (2001). *On Sonication of Chitin: Effects on its Structure and Morphology and Influence on its Deacetylation*. Sao Paulo-Brasil: Polymer Bulletin, Vol. 47 (2), pp. 183-190.
- **Chen**, R., Chang, J. y Shyur, J. (1997). *Effects of Ultrasonic Conditions and Storage in Acidic Solution on Changes in Molecular Weight and Polydispersity of Treated Chitosan*. : Carbohydrate Research, Vol. 299 (4), pp. 287-295.
- **Cocoletzi** H, et al. (2009). *Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón*. México: Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficie y Materiales, pp. 22:57-60.
- **Contreras**, W. y Perozo, R. (2007). *Eficiencia del Quitosano obtenido del *Litopenaeus schmitti* como coagulante en la potabilización de agua*. Maracaibo, Venezuela: Programa de Ingeniería, Universidad del Zulia, pp. 67.
- **Escobedo**, G., et al. (1999). *Producción de pigmentos, quitina y quitosana a partir de residuos de la industria camaronera. Parte 2: separación enzimática de quitina y producción de quitosana*, España: Industria Alimentaria, Vol. 21 (1), pp. 14-24.

- **Escorcía** D, Hernández D, Sánchez M. (2009). *Diseño y montaje de una planta piloto para la extracción de Quitina y proteínas*. Nicaragua: Revista Científica, Vol. 22. , pp. 45-55
- **Fernández**, M., et al. (2012). *Optimización del Proceso de Obtención de Quitosano Derivada de la Quitina de Langosta*. Cuba: Revista Iberoamericana de Polímeros, Vol. 13(3). , pp. 103 -116.
- **García** Gómez, R. et al (2004). *Aprovechamiento integral de los residuos del camarón y otros crustáceos: Fuente de pigmentos y polímeros naturales*. México: Revista del Instituto Mexicano de Ingenieros Químicos, pp. 45 (34) ,513.
- **García** Mendieta, A. (2010). *Características y propiedades de sorbentes naturales como materiales alternativos para disminuir las concentraciones de hierro y manganeso presentes en agua potable*. México: División de posgrado e investigación (instituto tecnológico de Toluca).
- **Hell**, F.; Lahnteiner J.; Frischherz H.; Baum- gartner G. Experience with full-scaleelectrodialysis for nitrate and hardness removal, Desalination 1998, 117, 173–180
- **Juárez** C. (2010). *Estudio del uso de enzimas comerciales en la preparación de quitina a partir de desperdicios de camarón*. Iztapalapa – México: Tesis de Especialidad. Universidad Autónoma Metropolitana.
- **Maeda**, M., Zhao, B., Ozaki, Y. y Yoneyama, T. (2003). Nitrate leaching in an Andisol treated with different types of fertilizers Tokyo, Japón. Revista Environmental Pollution (pp. 477-487).

- **Marguerite, R.**, (2006). *Chitin and chitosan: properties and applications*. Francia: Progress in Polymer Science, Vol.31, pp. 603–632.
- **Nieto, O.M** (1980). *Método para la obtención de quitina suficientemente pura*. Cuba: Patente Cubana CU 20760 A. oxidized landfill leachate by ion exchange. Journal of hazardous materials 2009, 164, 389–393
- **Patil, I.D.**, Husain, M.,Rahane, V.R (2013). *Ground water nitrate removal by using Chitosan as an adsorbent*. India: International Journal of Modern Engineering Research pp. 346-349.
- **Paz, N.**, et al. (2012). *Optimización Del Proceso De Obtención De Quitosano Derivada De La Quitina De Langosta*. Cuba: Revista Iberoamericana de Polímeros, Vol. 13(3), pp. 103-116.
- **Percot A**, Viton C, Domard A. (2003). *Optimization of chitin extraction from shrimp shells*. Francia: Biomacromolecules. pp. 4:12-18.
- **Primo, O.**; Rivero, M. J.; Urtiaga, A. M.; Ortiz, I. Nitrate removal from electro- oxidized landfill leachate by ion exchange. Journal of hazardous materials 2009,164, 389–393.
- **Raudel, O.**, (2003). *El agua en el medio ambiente: muestreo y análisis*. California, EE.UU: Plaza y Valdés, S.A de C.V.
- **Sánchez B.**, et al. (2007). *Síntesis y caracterización de hidrogeles de quitosano obtenido a partir del camarón langostinos con potenciales aplicaciones médicas*. San José- Costa Rica: Revista Iberoamericana de Polímeros. Vol. 8 (4), pp. 241-267.

- **Sastre, R., Ruiz, P., Guibal, E. (2010).** *Aplicación del biopolímero quitosano en la eliminación del color de las aguas residuales mediante el proceso combinado de coagulación-floculación y adsorción.* Catalunya-España: Oficina Española de Patentes y Marcas.
- **Severiche S., et al. (2013).** Manual de Métodos analíticos para la determinación de parámetros fisicoquímicos básicos en aguas. Cartagena de Indias, Colombia: Fundación Universitaria Andaluza Inca Garcilaso.
- **Shams, S. (2010).** Assessing Innovative Technologies for Nitrate Removal from Drinking Water.
- **Tresierra, A. (2006).** Metodología de la Investigación Científica. Editorial Biociencia, Trujillo, Peru.
- **Valenzuela, C. (2006).** *Obtención de Quitosano de Pota (Dosidicus Gigas) empleando altas dosis de Radiación Gamma.* Lima-Perú: Facultad de Química e Ingeniería Química: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

VIII ANEXOS

8.1 Cálculos para la caracterización de quitosano

- **Porcentaje de humedad**

Los datos obtenidos en el laboratorio son los siguientes:

Peso de recipiente con muestra sin humedad: 20.47 gr

Peso de recipiente vacío: 20.12

Peso de muestra de quitosano (húmedo): 4 gr.

Reemplazando en la ecuación:

$$\% H = \left(\frac{20.47 \text{ gr} - 20.12 \text{ gr}}{4 \text{ gr}} \right) \times 100$$

$$\% H = 8.75$$

- **Porcentaje de ceniza**

Los datos obtenidos en el laboratorio son los siguientes:

Peso de crisol con cenizas: 15.39 gr

Peso de crisol vacío: 15.36 gr

Peso de cenizas: 0.03 gr

Peso de muestra de quitosano: 2 gr.

Reemplazando en la ecuación:

$$\% C = \left(\frac{15.39 \text{ gr} - 15.36 \text{ gr}}{2 \text{ gr}} \right) \times 100$$

$$\% C = 1.5$$

- **Determinación del grado de desacetilación**

Los resultados obtenidos en el laboratorio para la desacetilación del quitosano utilizando la valoración potenciométrica se muestran en la tabla N° 10.

En el gráfico N° 5 se observa la tendencia de la valoración potenciométrica de la muestra de quitosano, y en el gráfico N°6 muestra la primera derivada de la curva de titulación, en donde se atisba claramente los puntos de inflexión que son necesarios para calcular el grado de desacetilación para la primera titulación de la muestra de quitosano.

Tabla 10. Titulación potenciométrica para la desacetilación del quitosano

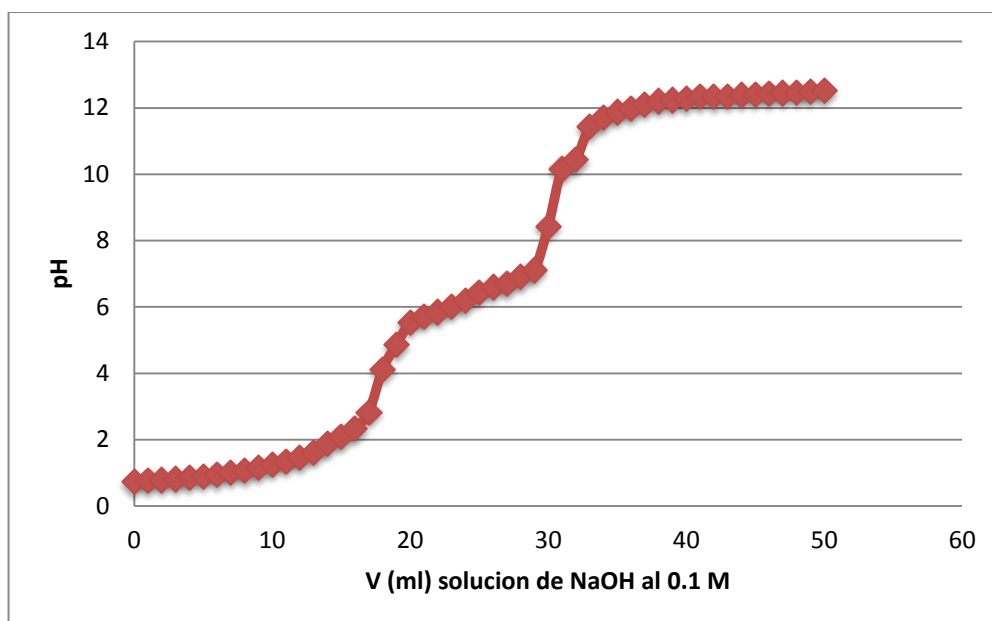
TITULACION POTENCIOMETRICA			
W (gr) = 0.25		Primera Derivada	
V (ml)	pH	V _{prom}	($\Delta pH/\Delta V$)
0	0.73	0	0
1	0.76	0.5	0.03
2	0.78	1.5	0.02
3	0.81	2.5	0.04
4	0.86	3.5	0.04
5	0.90	4.5	0.06
6	0.95	5.5	0.05
7	1.01	6.5	0.02
8	1.07	7.5	0.04
9	1.16	8.5	0.1

10	1.25	9.5	0.09
11	1.35	10.5	0.11
12	1.46	11.5	0.11
13	1.62	12.5	0.16
14	1.88	13.5	0.27
15	2.08	14.5	0.19
16	2.34	15.5	0.28
17	2.83	16.5	0.13
18	4.12	17.5	1.05
19	4.86	18.5	1.63
20	5.54	19.5	0.27
21	5.72	20.5	0.31
22	5.85	21.5	0.09
23	6.02	22.5	0.21
24	6.19	23.5	0.16
25	6.45	24.5	0.17
26	6.60	25.5	0.21
27	6.71	26.5	0.05
28	6.91	27.5	0.31
29	7.11	28.5	0.09
30	8.43	29.5	1.53
31	10.16	30.5	2.51
32	10.44	31.5	0.27
33	11.44	32.5	0.25
34	11.71	33.5	0.26

35	11.88	34.5	0.11
36	11.98	35.5	0.08
37	12.11	36.5	0.09
38	12.21	37.5	0.06
39	12.24	38.5	0.04
40	12.28	39.5	0.04
41	12.34	40.5	0.04
42	12.33	41.5	0.02
43	12.35	42.5	0.03
44	12.39	43.5	0.02
45	12.41	44.5	0.02
46	12.43	45.5	0.03
47	12.45	46.5	0.02
48	12.47	47.5	0.04
49	12.49	48.5	0.02
50	12.52	49.5	0.04

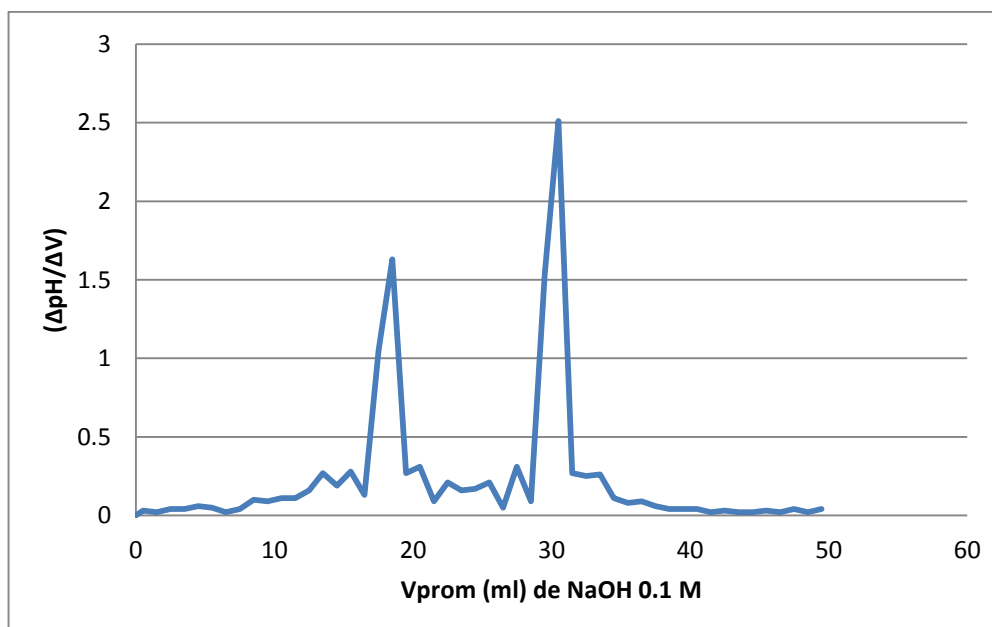
Nota: Elaborado por los autores.

Gráfico 5. Valoración potenciométrica con NaOH al 0.1 M.



Nota: Elaborado por los autores.

Gráfico 6. Primera derivada del pH vs primera derivada del volumen.



Nota: Elaborado por los autores

Tabla 11. Resultados del grado de desacetilación para la muestra de quitosano.

	TITULACIÓN POTENCIOMETRICA
w (gr)	0.15
x (ml)	18.5
y (ml)	30.5
% GD	?

Nota: Elaborado por los autores

Para determinar el % GD reemplazamos los valores de la ecuación anterior:

$$\% \text{ GD} = \frac{16.1 (30.5 - 18.5)}{0.15} \times 0.1$$

$$\% \text{ GD} = 77.28$$

- **Determinación del rendimiento total del proceso**

Los datos obtenidos dentro del proceso son los siguientes:

RR: 26.3 gr.

RT: 133.5 gr

Reemplazando en la fórmula:

$$\% \text{ R} = \frac{26.3 \text{ gr de quitosano}}{133.5 \text{ gr de harina neta}} \times 100$$

$$\% \text{ R} = 19.7$$

- **Cálculos Para la Determinación de Nitratos y su Concentración**

- **Preparación de las soluciones madres e intermedias**

En primer lugar determinamos el porcentaje en masa del anión nitrato, para conocer su concentración para posterior uso en los cálculos en la elaboración de la curva de calibración.

Entonces conociendo las masas atómicas de los elementos que constituyen el KNO_3 :

K= 39.10 gr/ mol

N= 14.01 gr/ mol

O= 16.00 gr / mol

Se puede obtener la masa molar del KNO_3

Masa molar de KNO_3 = 39.10 gr/ mol + 14.01 gr/ mol + 16.00 * 3 gr/ mol

Masa molar de KNO_3 = 101.11 gr / mol

Con esta información determinamos y definimos el porcentaje en masa del anión NO_3^- .

$$\% \text{ en masa} = \frac{14.01 \text{ gr/mol} + 16.00 * 3 \text{ gr / mol}}{101.11 \text{ gr / mol}}$$

$$\% \text{ en masa} = 61.33$$

A partir del porcentaje en masa determinamos cuanto debemos usar de KNO_3 para crear una solución madre de nitratos:

Masa de anión NO_3^- = 1.631 gr * (61.33 / 100)

Masa de anión NO_3^- = 1.00 gr

Masa de anión NO_3^- = 1000 mgr

$$\text{Concentración de NO}_3^- = \frac{1000 \text{ mgr}}{0.500 \text{ Litros}}$$

$$\text{Concentración de NO}_3^- = 2000 \text{ mgr / L}$$

$$\text{Concentración de NO}_3^- = 2000 \text{ ppm}$$

Entonces deducimos que 1.00 mL = 2000 µg NO₃⁻.

Diluir 50 mL de la solución madre de nitrato y enrasar con agua en un matraz aforado de 500 mL, preservar con adición de 2 mL de cloroformo. Los cálculos para especificar su concentración se da a continuación:

$$(50 \text{ ml solución madre}) (2000 \text{ ppm}) = (500 \text{ ml}) (C_2)$$

$$C_2 = 200 \text{ ppm}$$

Entonces deducimos que 1.00 mL = 200.00 µg NO₃⁻.

La siguiente tabla resume los volúmenes y concentración de las diferentes soluciones intermedias de nitratos:

Tabla 12. Soluciones intermedias para determinar la curva de calibración.

Volumen de solución intermedia (mL)	Volumen agua destilada (mL)	Volumen total de solución (mL)	Concentración (ppm)
0.0	20.0	20.0	0.0
1.0	19.0	20.0	10.0
2.0	18.0	20.0	20.0
3.0	17.0	20.0	30.0
4.0	16.0	20.0	40.0
5.0	15.0	20.0	50.0
6.0	14.0	20.0	60.0
7.0	13.0	20.0	70.0
8.0	12.0	20.0	80.0
9.0	11.0	20.0	90.0
10.0	10.0	20.0	100.0

Nota: Elaborado por los autores

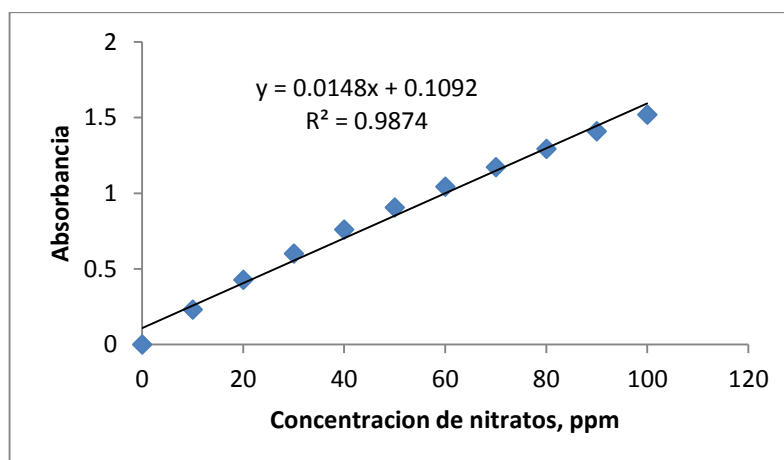
- **Preparación de las curvas de calibración**

Las soluciones intermedias anteriores se transfieren a tubos espectrofotométricos óptico y se lee en el espectrofotómetro las absorbancias a 220 y 275 nm. En las siguientes tablas se muestran las absorbancias de las dos longitudes de onda:

Tabla 13. Absorbancia a una longitud de onda de 220 nm.

Volumen de solución intermedia (mL)	Concentración (ppm)	Absorbancia (220 nm)
0.0	0.0	0
1.0	10.0	0.231
2.0	20.0	0.428
3.0	30.0	0.602
4.0	40.0	0.761
5.0	50.0	0.907
6.0	60.0	1.044
7.0	70.0	1.172
8.0	80.0	1.293
9.0	90.0	1.41
10.0	100.0	1.52

Nota: Elaborado por los autores.

Gráfico 7. Línea de Concentración Vs Absorbancia hallado a una Longitud de Onda de 220 nm.

Nota: Elaborado por los autores

- **Determinación de Varianza**

Para determinar la varianza de las absorbancias utilizamos la siguiente formulas:

$$\text{Media } (\bar{X}) = \frac{0+0.231+0.428+0.602+0.761+0.907+1.044+1.172+1.293+1.41+1.52}{11}$$

$$\text{Media } (\bar{X}) = 0.852$$

Tabla 14. Determinación de la Varianza a una Longitud de Onda de 220 nm.

X_i	$(X - X_i)$	$(X - X_i)^2$
0	-0.852	0.726
0.231	-0.621	0.386
0.428	-0.424	0.180
0.602	-0.25	0.063
0.761	-0.091	0.008
0.907	0.055	0.003
1.044	0.192	0.037
1.172	0.32	0.102
1.293	0.441	0.194
1.41	0.558	0.311
1.52	0.668	0.446

Nota: Elaborado por los autores

Hallamos

$$\begin{aligned} \sum (X - X_i)^2 &= 0.726 + 0.386 + 0.180 + 0.063 + 0.008 + 0.003 + 0.037 \\ &+ 0.102 + 0.194 + 0.311 + 0.446 \end{aligned}$$

$$\sum (X - X_i)^2 = 2.456$$

Reemplazamos en la siguiente formula

$$S^2 = \sum (x - x_i)^2 / (N-1)$$

$$S^2 = 2.456 / (11-1)$$

$$S^2 = 0.2456$$

Determinación de Desviación estándar

$$S = \sqrt{0.2456}$$

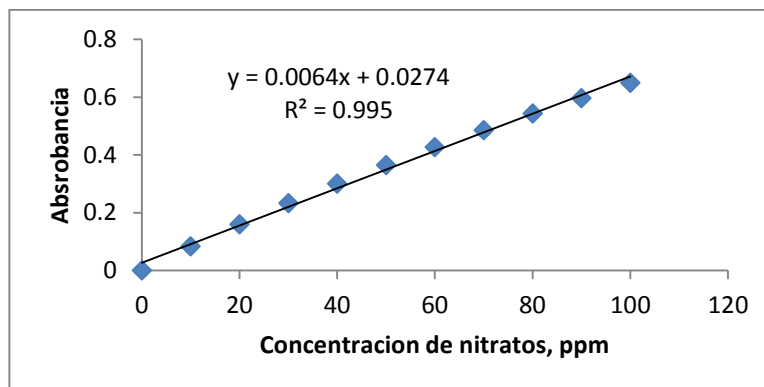
$$S = 0.50$$

Tabla 15. Absorbancia a una longitud de onda de 275 nm.

Volumen de solución intermedia (mL)	Concentración (ppm)	Absorbancia (275 nm)
0.0	0.0	0.0
1.0	10.0	0.083
2.0	20.0	0.160
3.0	30.0	0.233
4.0	40.0	0.301
5.0	50.0	0.365
6.0	60.0	0.427
7.0	70.0	0.486
8.0	80.0	0.543
9.0	90.0	0.597
10.0	100.0	0.650

Nota: Elaborado por los autores

Gráfico 8. Tendencia lineal de la absorbancia con una longitud de onda de 275 nm.



Nota: Elaborado por los autores.

- **Determinación de Varianza**

Para determinar la varianza de las absorbancias utilizamos la siguiente formulas:

$$\text{Media } (\bar{X}) = \frac{0+0.083+0.160+0.233+0.301+0.365+0.427+0.486+0.543+0.597+0.65}{11}$$

$$\text{Media } (\bar{X}) = 0.35$$

Tabla 16. Determinación de la Varianza a una Longitud de Onda de 275 nm.

X_i	$(X - X_i)$	$(X - X_i)^2$
0.0	0.350	0.123
0.083	0.267	0.071
0.160	0.190	0.036
0.233	0.117	0.014
0.301	0.049	0.002
0.365	-0.015	0.000
0.427	-0.077	0.006
0.486	-0.136	0.018
0.543	-0.193	0.037
0.597	-0.247	0.061
0.650	-0.300	0.090

Nota: Elaborado por los autores.

Hallamos

$$\sum (X - X_i)^2 = 0.123 + 0.071 + 0.036 + 0.014 + 0.002 + 0.000 + 0.006 + 0.018 + 0.037 + 0.061 + 0.090$$

$$\sum (X - X_i)^2 = 0.459$$

Reemplazamos en la siguiente formula

$$S^2 = \sum (x - x_i)^2 / (N-1)$$

$$S^2 = 0.459 / (11-1)$$

$$S^2 = 0.0459$$

Determinación de Desviación estándar

$$S = \sqrt{0.0459}$$

$$S = 0.214$$

Para hallar las concentraciones de nitratos en las muestras de agua de pozo se utiliza las siguientes formulas:

I. $Ac = (\text{Absorbancia a } 220 \text{ nm}) - (2 * \text{Absorbancia a } 275 \text{ nm})$

II. $C \text{ (mg/L NO}_3^-) = Cp \text{ (mg/L NO}_3^-) * (Ac / Ap)$

Dónde:

Ac = Absorbancia corregida de la muestra.

C = concentración de la muestra, ppm NO₃⁻.

Cp = concentración del patrón, pm NO₃⁻.

Ap = Absorbancia del patrón.

Cálculo de las concentraciones de nitratos en las diferentes muestras de agua de pozo antes de haber agregado el quitosano:

- **Concentración de nitratos de muestra N° 1**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.304 / 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 40.11$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 2**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.285 / 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 37.60$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 3**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.401 / 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 52.90$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 4**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.358 / 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 47.23$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 5**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.472 / 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 62.27$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 6**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.444/ 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 58.58$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 7**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.492/ 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 64.91$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 8**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.312/ 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 41.16$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 9**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.294/ 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 38.79$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 10**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.503/ 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 66.36$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 11**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.412/ 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 54.35$$

Cálculo de las concentraciones de nitratos en las diferentes muestras de agua de pozo después de haber agregado el quitosano:

- **Concentración de nitratos de muestra N° 1**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.043 / 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 5.67$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 2**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.037 / 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 4.88$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 3**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.047 / 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 6.20$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 4**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.041 / 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 5.41$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 5**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.068 / 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 8.97$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 6**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.058 / 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 7.65$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 7**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.077 / 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 10.16$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 8**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.032 / 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 4.22$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 9**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.046 / 0.379)$$

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 6.07$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 10**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.064 / 0.379)$$

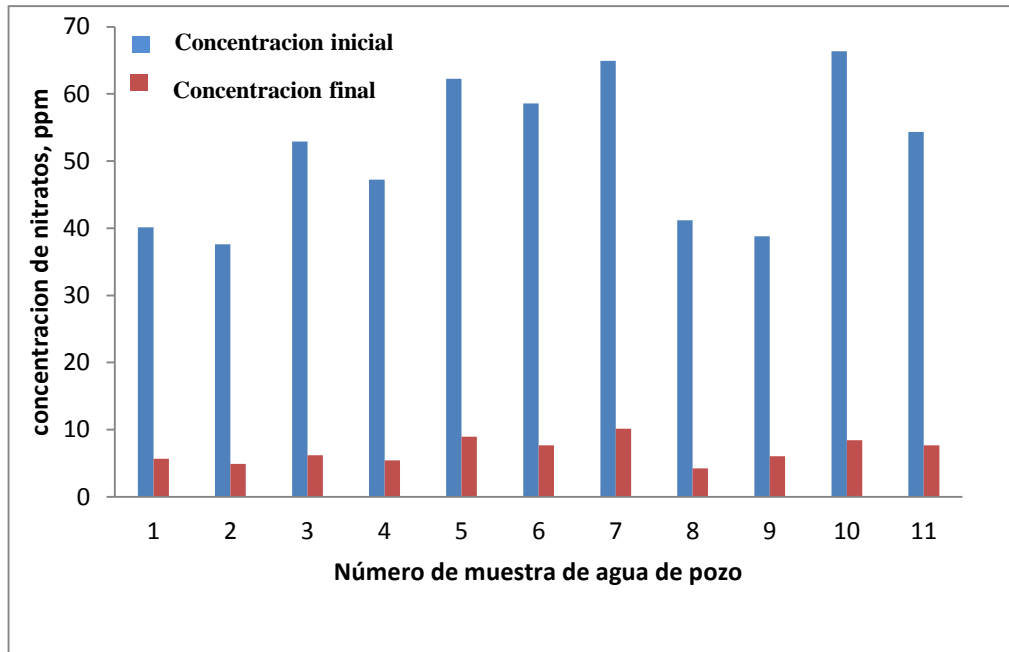
$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 8.44$$

- **Concentración de nitratos de muestra N° 11**

$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 50 \text{ (mg/L NO}_3^-) * (0.058 / 0.379)$$

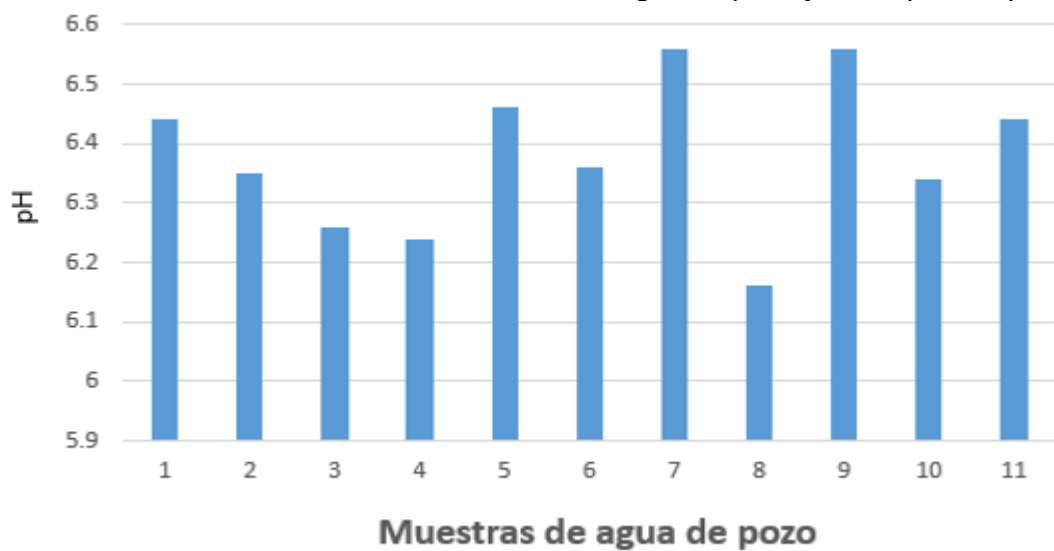
$$C \text{ (mg/L NO}_3^-) = 7.65$$

Gráfico 9. Comparación entre concentraciones de nitratos en agua de pozo antes y después de la aplicación de quitosano



Nota: Elaborado por los autores.

Gráfico 10. Diferentes muestras de agua de pozo y su respectivo pH



Nota: Elaborado por los autores.

1. Recepción y selección de la materia prima.



2. Lavado y secado de los exoesqueletos.

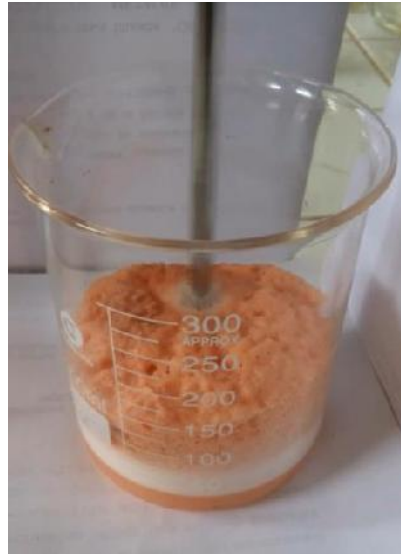


3. Triturado del exoesqueletos de langostino seco.



4. Proceso de desmineralización del exoesqueleto de langostino con HCl 1.3 N.





5. Medición de pH y lavado de la solución de quitina después del proceso de desmineralización.



6. Filtrado y secado de la quitina obtenida después de la desmineralización.



7. Proceso de desprotenización de la quitina obtenida después de la desmineralización.



8. Lavado de la solución de quitina después del proceso de desproteínización.



9. Filtrado y secado de quitina después de la desproteínización.



10. Desacetilacion de la quitina.**11. Secado, detrimento y pesado del quitosano obtenido.**

12. Recolección de la muestra de agua de pozo en la comunidad de Chaullacocha – Cutervo.



13. Preparación de soluciones madre e intermedias para la determinación de nitratos.



14. Preparación de muestras patrones para curvas de calibración de nitratos.



15. Obtención de las concentraciones de nitratos con ayuda del espectrofotómetro antes de agregar quitosano a las muestras de agua.



16. **Adición de quitosano, filtrado y determinación de concentración de nitratos después de haber agregado quitosano en las muestras de agua de pozos.**



