



**OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO PROVENIENTE
DE QUITINA DE CUATRO ESPECIES DE INSECTOS Y EVALUACION
PRELIMINAR DE SU USO EN REMOCIÓN DE CROMO EN AGUA**

MAYDEYI CASTAÑEDA BARRERA

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA
PAMPLONA, COLOMBIA

2016

**CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO OBTENIDO A PARTIR DE
QUITINA DE CUATRO ESPECIES DE INSECTOS PARA SU USO EN
REMOCIÓN DE CROMO EN AGUA**

MAYDEYI CASTAÑEDA BARRERA

Proyecto presentado como requisito parcial para optar por el título de:
Ingeniera química

Directora:
M.Sc. Yaneth Cardona Rodríguez

Codirectora:
Dra. Diana Alexandra Torres

Grupo de investigación Biocalorimetría

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA
PAMPLONA, COLOMBIA
2016

Dedicatoria

A mi mami Belky Barrera Flores, a mis hermanitos Sara y Sergio y a la memoria de mi papá Asdrúbal Castañeda. Por ser un apoyo emocional y económico incondicional, por amarme y creer siempre en mí.

A la vida por confabular para que las dificultades no sean un obstáculo, sino una oportunidad de ser mejor y porque no; a mí misma, por la perseverancia a lo largo de este recorrido.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por amarme y no dejar que abandone mis sueños, por darme fuerzas y aliento para seguir adelante.

A mi familia y en especial a mi mami porque su amor incondicional, por su apoyo emocional y económico.

A todos aquellos docentes que a través de toda mi formación académica, desde mis primeras letras hasta mi última asignatura de pregrado en la presente fecha, quienes a cambio de su tiempo me enseñaron lo necesario para poder materializar y dar forma a una idea.

A mi directora de tesis M.Sc Yaneth Cardona Rodríguez por creer en mí a pesar de las condiciones en que empezamos a trabajar, por brindarme sus conocimientos como profesional y como persona y por la infinita paciencia que me tiene.

Al mi codirectora Dra Diana Alexandra Torres y al grupo de investigación SeBioca por brindarme el espacio y los medios para realizar mi trabajo.

A mi alma máter, la Universidad de Pamplona, específicamente al Programa de Ingeniería Química por formarme como Ingeniera Química poniendo a mi disposición las herramientas necesarias, incluida, una planta docente con gran calidad profesional y humana.

Al laboratorio de control de calidad de la Universidad de Pamplona, por facilitar los recursos físicos y humanos necesarios para el desarrollo de este proyecto y a Wolfgang Hoffmann, por la identificación de las especies de insectos.

RESUMEN

En este trabajo se obtuvo quitina a partir de 4 insectos pertenecientes a diferentes familias: Formicidae (hormigas), Vespidae (avispas), Apidae (abejas) e Isóptera (termitas). Las quitinas obtenidas, se desacetilaron, convirtiéndolas en quitosano y ambos biopolímeros se analizaron mediante FTIR obteniendo las bandas características de estos en el infrarrojo, lo cual significa que el proceso de extracción y obtención de dichos biopolímeros a partir de las cuatro especies de insectos (*Apis Mellifera* Africanizada, *Polistes erythrocephalus*, *Atta cephalotes*, *Nasutiermes* sp) fue exitoso. Adicionalmente la quitina y el quitosano mostraron la presencia de dos eventos térmicos y dos pérdidas de masa, debidas a la evaporación del agua y a la degradación de las mismas.

Con respecto a las pruebas relacionadas con el uso del quitosano como biosorbente de cromo (VI), los resultados mostraron que todas las muestras de quitosano reducen la cantidad de cromo (VI) en una solución acuosa (~55ppm), siendo el más adecuado el obtenido a partir de hormigas (*Atta cephalotes*), con un 40,13% que a su vez tiene mayor contenido de quitina (19,1772%) y presenta un menor remoción con un 12,47% el quitosano de termitas.

ABSTRACT

In this work chitin was obtained from 4 insects belonging to different families: Formicidae (ants), Vespidae (wasps), Apidae (bees) and Isoptera (termites). The chitins obtained were deacetylated and converted into chitosan and both biopolymers were analyzed by FTIR obtaining the characteristic bands of these in the infrared, which means that the process of extraction and obtaining of these biopolymers from the four species of insects (*Mellifera Africanized*, *Polistes erythrocephalus*, *Atta cephalotes*, *Nasutitermes* sp) was successful. In addition, chitin and chitosan show the presence of two thermal elements and two mass losses, due to the evaporation of water and the degradation of the same.

(VI), the results show that all samples of chitosan reduce the amount of chromium (VI) in an aqueous solution (~ 55ppm), the most suitable being obtained from ants (*Atta cephalotes*), with a 40,13 % That has its highest content of chitin (19.1772%) and presents a lower removal with 12.47% of termite chitosan.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
1. MARCO REFERENCIAL	3
1.1 QUITINA.....	3
1.1.1 Propiedades físicas	4
1.1.2 Usos.....	5
1.1.3 Fuentes de quitina.....	6
1.1.4 Obtención de quitina y quitosano a partir de insectos	7
1.2 INSECTOS.....	8
1.2.1 Abejas	8
1.2.2 Avispas.....	9
1.2.3 Hormigas	10
1.2.4 Termitas	10
1.3 METALES PESADOS.....	11
1.3.1 Cromo	11
1.3.2 Biosorción.....	12
1.4 TÉCNICAS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL.....	12
1.4.1 Espectrometría infrarroja con transformada de Fourier FTIR.....	12
1.4.2 Análisis Termogravimétrico (TGA)	13
1.4.3 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	14
1.4.4 Aplicación TGA Y DSC	14
1.4.5 Espectroscopia de absorción atómica (AA)	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3. METODOLOGÍA	18
3.1 MUESTREO	18
3.2 EXTRACCIÓN DE QUITINA Y OBTENCIÓN DE QUITOSANO	19
3.3 CARACTERIZACIÓN DE LA QUITINA Y EL QUITOSANO	21
3.3.1 Espectrometría infrarroja con transformada de fourier (FTIR)	21

3.3.2	Termogravimetría simultánea con calorimetría diferencial de barrido (TGA/DSC).....	22
3.4	Evaluación preliminar de su posible uso en remoción de cromo.	23
3.4.1	Espectroscopia de absorción atómica (AA)	23
3.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	23
4.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	24
4.1.1	Calculo de Humedad y porcentaje de quitina.....	24
4.2	ESPECTROMETRÍA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	26
4.2.1	Quitina.....	26
4.2.2	Quitosano	30
4.3	ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO	34
4.4	ABSORCIÓN ATÓMICA.....	39
5.	CONCLUSIONES	42
	RECOMENDACIONES	44
	BIBLIOGRAFÍA.....	45
	ANEXOS	48

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Especies de las que se ha extraído quitina.....	7
Tabla 2. Características de zona de muestreo	18
Tabla 3. Determinación de humedad de los insectos	24
Tabla 5. Datos de los espectros de la quitina de las cuatro especies de insectos....	29
Tabla 6. Datos de los espectros de la quitosano de las cuatro especies de insectos	32
Tabla 7. Resultados TGA	36
Tabla 8. Resultados DSC	38
Tabla 9. Datos curva de calibración y lectura de ensayos de remoción	39
Tabla 10. Ensayos y concentración más o menos SD	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Unidad estructural de (a) quitina y (b) celulosa.....	3
Figura 2. Estructura química de la quitina y el quitosano	4
Figura 3. Estructura cristalina de la α -quitina propuesta por Minke and Blackwel	5
Figura 4. Ubicación zona de muestreo (a) Colombia (b) Norte de Santander (c) Chinacota Pamplonita y Herrán.....	19
Figura 5. Diagrama de bloques obtención de quitina.....	20
Figura 6. Espectrofotómetro infrarrojo FT-IR SHIMADZU Prestige-21 con ATR	22
Figura 7. Equipo SDT-Q600 de TA Instruments.....	22
Figura 8. Espectrofotómetro de absorción atómica Shimadzu AA-7000	23
Figura 9. Dendograma	25
Figura 10. Espectro FTRI de quitina extraída de abejas (<i>Apis Mellifera</i> Africanizada).....	27
Figura 11. Espectro FTRI de quitina extraída de avispas (<i>Polistes erythrocephalus</i>).....	27
Figura 12. Espectro FTRI de quitina extraída de hormigas (<i>Atta cephalotes</i>) ...	28
Figura 13. Espectro FTRI de quitina extraída de termitas (<i>Nasutitermes</i> sp.).	28
Figura 14. Espectro FTIR de las cuatro especies de insectos	29

Figura 15. Espectro FTIR de Quitosano de <i>Apis Mellifera Africanizada</i>	31
Figura 16. Espectro FTIR de <i>Polistes erythrocephalus</i>	31
Figura 17. Espectro FTIR de Quitosano de <i>Atta cephalotes</i>	31
Figura 18. Espectro FTIR de Quitosano de <i>Nasutitermes</i> sp.	32
Figura 19. Espectro FTIR de los Quitosanos de las cuatro especies de insectos..	34
Figura 20. Termograma de A) Quitina y B) Quitosano obtenido a partir de abejas (<i>Apis Mellifera Africanizada</i>)	34
Figura 21. Termograma de A) Quitina y B) Quitosano obtenido a partir de avispas (<i>Polistes erythrocephalus</i>).....	35
Figura 22. Termograma de A) Quitina y B) Quitosano obtenido a partir de termitas (<i>Nasutitermes</i> sp).....	35
Figura 23. Termograma de A) Quitina y B) Quitosano obtenido a partir de hormigas (<i>Atta cephalotes</i>).	35
Figura 24. Diagrama de caja y bigotes para las pérdidas de peso A) pérdida 1, B) pérdida 2	37

INTRODUCCIÓN

El mercado mundial de quitina es muy amplio ya que este biopolímero tiene extensas aplicaciones en numerosas industrias tales como agricultura, biomédica, farmacéutica, cosmética, tratamiento de agua y alimentos. Los ingresos generados a partir de su producción y comercialización como materia prima en las diferentes industrias, se valoraron en alrededor de \$ 1,35 mil millones de dólares en 2013. Se estima una expansión del mercado de este biopolímero en el periodo comprendido entre el 2014 y 2020; con un ingreso aproximado de hasta \$ 4,20 mil millones de dólares. Japón y China son líderes en la producción de quitina, debido a la abundancia de materia prima que poseen, Asia representaba más del 55% del mercado mundial en 2013, seguida por Norte América y Europa. En Japón, América del Norte y Europa se presenta la mayor demanda de quitina, siendo el tratamiento de agua el mayor consumidor en el mercado mundial, seguido por el sector agroquímico, el farmacéutico y el biomédico [1, 2].

El quitosano se obtiene a partir de la quitina mediante un proceso de desacetilación. Dadas las excelentes propiedades de estos dos polímeros; las cuales incluyen toxicidad nula, biocompatibilidad y biodegradabilidad, son ampliamente recomendados como posibles sustituyentes de los polímeros sintéticos. Adicionalmente, dentro de los usos del quitosano se encuentran los relacionados con sistemas acuosos, por ejemplo para el tratamiento de aguas residuales. De las especies normalmente presentes en las aguas superficiales, se encuentra el cromo, que es mucho más tóxico en su forma hexavalente Cr (VI). En los últimos años, algunas investigaciones, han centrado su interés en la biosorción de este ion metálico sobre quitosano, como en el estudio realizado por Pájaro y Díaz, 2012., en nuestro país; en el cual, se trabajó con quitosano obtenido a partir de crustáceos y se encontró que este polímero se comportó como un bioadsorbente adecuado para la remoción de Cr (VI) a las concentraciones trabajadas [3, 4].

A lo largo de los años, la quitina se ha obtenido principalmente de desechos producto de la industria pesquera, en su mayoría de los exoesqueletos de crustáceos (camarones y cangrejos); sin embargo, la variación estacional y la disminución de materia prima debida a la sobre-explotación de este recurso, han hecho indispensable la búsqueda de fuentes alternativas de quitina, debido a sus amplios usos industriales. Por ello, en los últimos años se han estudiado algunos hongos e insectos como posible solución a este inconveniente, encontrando que el contenido de quitina en insectos es considerable e incluso comparable con el de los crustáceos; además, se encontró que la quitina obtenida por insectos es

térmicamente más estable **[5-8]**.

Los insectos juegan un papel primordial en la naturaleza ya que son los encargados de polinizar, controlar poblaciones de invertebrados, aumentar la materia orgánica y ser el alimento de otras especies para cumplir con la cadena alimenticia. Algunos insectos tienen periodos de vida relativamente cortos, por ejemplo las colmenas de abejas se renuevan del 60 - 80% en época de invierno, debido a la muerte de las obreras que no viven más de 36 días. En el caso de las avispas, las obreras, viven en promedio de 2 a 4 semanas **[9]**. Este hecho aumenta el interés sobre el uso de insectos muertos como biomasa, siendo una alternativa no convencional, pero viable para la producción de quitina. El uso adecuado de estos residuos de insectos, podría implicar un ingreso monetario a largo plazo, lo cual, a su vez favorecería al medio ambiente y al ser humano, pues en el caso de la apicultura; por ejemplo, se esperaría que este aumento fuese directamente proporcional al aumento en la inversión de sus criaderos, lo cual nos favorece por el papel de estos insectos como polinizadores. A pesar del interés que los insectos han despertado como materia prima para la obtención de quitina, los estudios realizados hasta el momento solo se han llevado a cabo con abejas mellíferas, saltamontes, mariposas y algunos coleópteros. En este proyecto, se obtuvo quitina y quitosano a partir de cuatro insectos diferentes (hormigas, avispas, abejas y termitas) y se realizó una comparación de sus características térmicas mediante TGA/DSC y su composición mediante FTIR. Adicionalmente, dado el uso del quitosano como biosorbente de cromo (VI), se expuso el quitosano obtenido a una solución 55,3488 ppm de cromo hexavalente, observando diferencias significativas en la reducción del ion, mediante espectroscopia de absorción atómica **[6, 10-13]**.

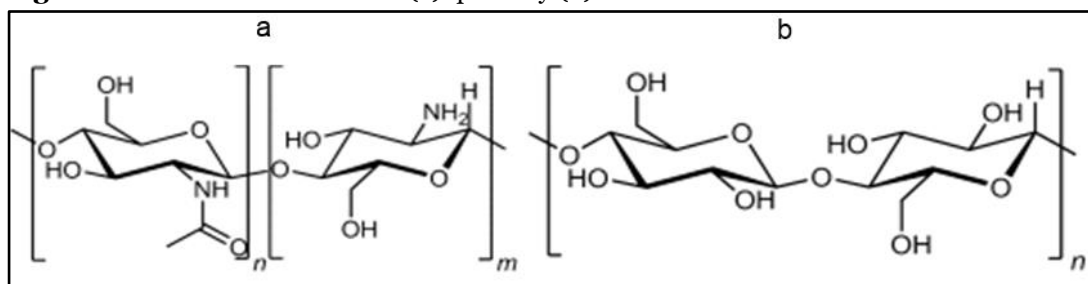
1. MARCO REFERENCIAL

1.1 QUITINA

La quitina es un homopolisacárido lineal que se encuentra considerablemente repartido en los diversos reinos de los organismos vivos, siendo el segundo polímero natural más abundante en el mundo después de la celulosa [14]. La quitina en la naturaleza se encuentra como tres polimorfos (α , β , y γ), la α -quitina es la estructura más común y forma parte de los exoesqueletos de los artrópodos (arácnidos, crustáceos e insectos), mientras que la β -quitina se encuentra en los huesos de sepia y en las plumas del calamar y la γ -quitina existe en hongos y levadura. Las tres formas se diferencian en el sentido de las cadenas del polisacárido, estando dispuestas de manera anti-paralela en la α -quitina, paralela en la β -quitina y siendo una mezcla de estos dos (láminas paralelas y anti-paralelas,) en la γ -quitina [15].

El primer hallazgo de quitina fue hecho por el profesor Henri Braconnot en 1811 a partir de hongos superiores y fue llamado fungine. El nombre quitina fue dado por Odier en 1823, tras encontrar la misma sustancia, pero esta vez la extracción se realizó a partir de los exoesqueletos de los insectos. Los animales como crustáceos e insectos contienen quitina en sus caparazones y las plantas producen celulosa en sus paredes celulares; así, la quitina y la celulosa son biopolímeros que suministran protección e integridad estructural a los animales y a las plantas. En muchos exoesqueletos la quitina forma una matriz sobre la cual se lleva a cabo la mineralización, de forma similar a como actúa el colágeno como matriz para el depósito de mineral en los huesos de los vertebrados. Las estructuras de la quitina y la celulosa son similares, difiriendo en que el grupo hidroxilo de la celulosa es sustituido por un grupo acetilamina en la quitina como se observa en la figura 1 [16, 17].

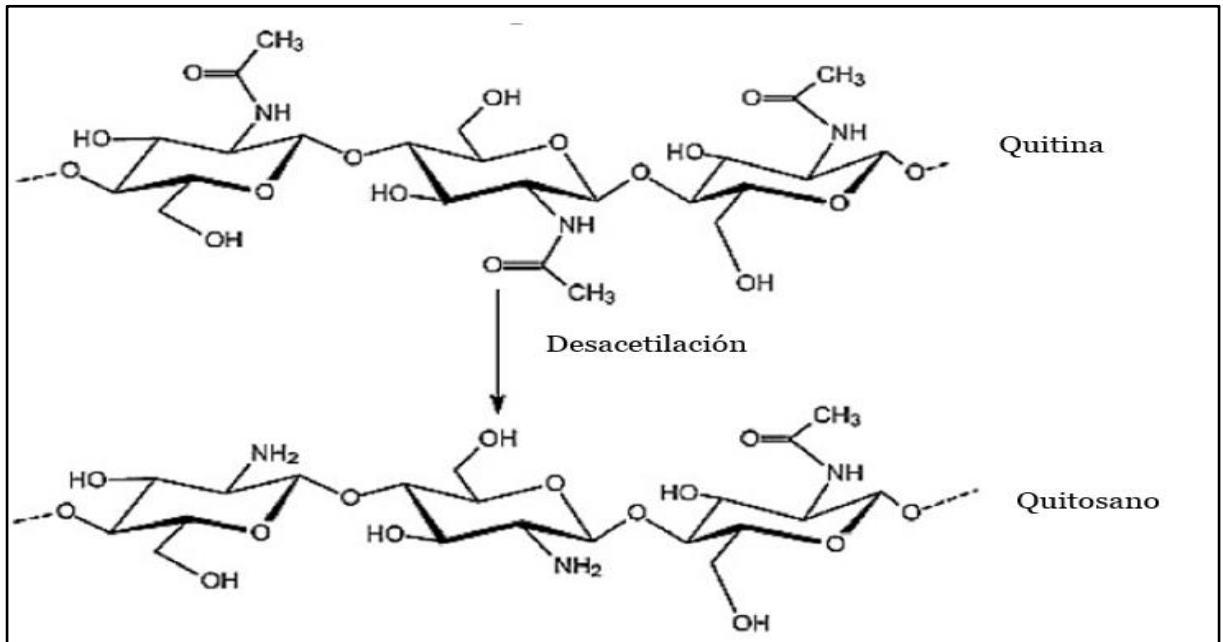
Figura 1. Unidad estructural de (a) quitina y (b) celulosa



Fuente: Sagheer, 2009 [15]

La quitina formada por una cadena lineal de unidades de N-acetil-D-glucos-2-amina presenta insolubilidad en algunos disolventes comunes como el agua, restringiendo sus aplicaciones. Por esta razón, la quitina es transformada en quitosano; el cual, se obtiene por desacetilación de la quitina mediante hidrolisis alcalina, volviéndose soluble en agua al alcanzar un grado de desacetilación mayor al 50%. Cuando el grado de desacetilación es menor al 50%, este biopolímero sigue siendo quitina y por ende sigue presentando insolubilidad, el quitosano disponible comercialmente se encuentra con grados de desacetilación que varían del 70% al 100% [16, 18-20]. La quitina y el quitosano son en esencia la misma forma macromolecular, como se puede observar en la figura 2.

Figura 2. Estructura química de la quitina y el quitosano



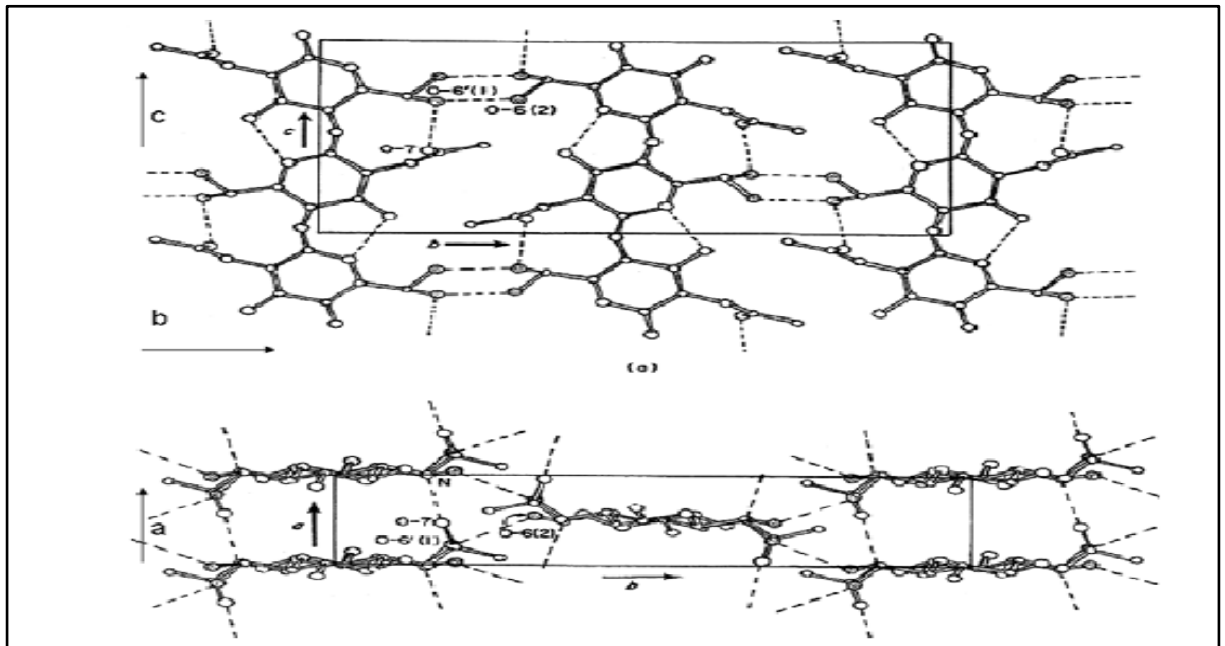
Fuente: Usman, 2026 [16]

1.1.1 Propiedades físicas

La quitina y el quitosano en estado sólido, poseen propiedades diferentes de las que presentan en estado líquido. En solución, las propiedades dependen de los parámetros de solubilidad y conformación de la cadena, mientras que en estado sólido las propiedades dependen de la accesibilidad y la movilidad de las cadenas del polímero, lo cual se refiere a los parámetros relacionados con la morfología y cristalinidad.

La presencia y abundancia de los grupos hidroxilos (primario en C-6 y secundario en C-3) y el grupo N-acetil o amino (en C-2) en las moléculas de quitina y quitosano respectivamente, tienen tendencia a la formación de puentes de hidrógeno intra e inter moleculares que favorecen la formación de agregados lineales de alta cristalinidad. Las cadenas de quitina forman puentes de hidrógeno mediante los grupos C=O y H-N, que a su vez forman puentes de hidrógeno con los anillos de azúcar vecinos entre el grupo carbonilo y el grupo hidroxilo del C-6, existe otro puente de hidrógeno que se forma entre el grupo OH del C-3 y el oxígeno del anillo, lo que aumenta la rigidez de la cadena manteniendo una estructura altamente ordenada, como se muestra en la figura 3 [21].

Figura 3. Estructura cristalina de la α -quitina propuesta por Minke and Blackwel



Fuente: Pacheco, 2010 [21]

1.1.2 Usos.

Estos biopolímeros representan una fuente abundante y renovable de nitrógeno; a la cual, puede acceder un amplio número de organismos, que adicionalmente se verán beneficiados con su biocompatibilidad y actividad biológica (antimicrobiana, inmunológica y antioxidante). Dadas las diferentes propiedades de la quitina y su abundancia en la naturaleza, este polímero ha despertado un notable interés en cuanto a sus usos en las diferentes industrias, tales como: alimenticia, farmacéutica, cosmética, dermatológica, agricultura y de textiles [22].

Uno de los sectores más dinámicos y competitivos en el país y el mundo es el alimenticio, dentro de las aplicaciones de la quitina en esta industria, está su uso como conservante de alimentos, pues dada su actividad antimicrobiana, este biopolímero puede proteger los productos alimenticios del deterioro causado por microorganismos. En la industria farmacéutica, la quitina se ha empleado como materia prima en la elaboración de nuevos materiales consumibles, como una valiosa alternativa para encapsular medicamentos y protegerlos de la degradación. Adicionalmente, se encuentran en la literatura algunas aplicaciones biomédicas, relacionadas con la cicatrización de heridas, la fabricación de lentes para oftalmología y la regeneración dérmica [7, 22, 23].

Los usos más comunes de quitina en América latina incluyen el recubrimiento de frutas, semillas y biocidas; adicionalmente, se han realizado algunas investigación relacionadas con su uso en el campo de la agricultura [24]. El uso del quitosano en frutas u hortalizas reduce la aparición de pudriciones durante su almacenamiento, las cuales son causadas en su mayoría por microorganismos como *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, *Alternaria alternata* y *Penicillium expansum* [25].

1.1.3 Fuentes de quitina

Tradicionalmente la fuente principal de quitina son los exoesqueletos de crustáceos (cangrejo y camarón), que son los principales desechos de la industria pesquera. La quitina también se encuentra en la cutícula de los insectos junto con proteínas, minerales y pigmentos. En 2013, se estimó que el mercado mundial de quitosano (quitina desacetilada) generó ingresos alrededor de los 1,35 mil millones de dólares, siendo Japón y china los líderes en su producción. Dentro de las diferentes materias primas empleadas como posible alternativa para el reemplazo de crustáceos en la producción de quitina, se encuentran los insectos. Un estudio comparativo de la cantidad de quitina en hongos, insectos y animales musgo, realizado en el 2015 por Murat K. y colaboradores, mostró que el hongo (*Fomes fomentarius*) presentó el menor contenido de quitina en peso seco (2,4%), seguido del insecto (*Palomena prasina*) 10,8% y el animal musgo (*Plumatella repens*) 13,3%. También se encontró que hay diferencias en el comportamiento térmico de estas tres quitinas obtenidas, siendo térmicamente más estable la quitina obtenida a partir del insecto (386°C), seguida por la quitina del animal musgo (355°C) y la del hongo (334°C) [5, 19, 26]. En la tabla 1 se pueden observar algunas de las especies utilizadas en los últimos años como materia prima para la obtención de quitina.

Tabla 1. Especies de las que se ha extraído quitina

Filo	Nombre Común	Especie	Ref
Artrópodos	Cangrejo	<i>Callinectes sapidus</i> , <i>Portunus pelagicus</i>	[15, 27, 28]
Artrópodos	Camarón	<i>Penaeus vannameis</i> , <i>Farfantepenaeus aztecus</i> , <i>Litopenaeus vannamei</i> , <i>Penaeus semisulcatus</i> , <i>Metapenaeus affinis</i>	[8, 15, 27, 29]
Artrópodos	Cigarra	<i>Magicicada septendecim</i>	[8, 19]
Artrópodos	Mosca	<i>Drosophila melanogaster</i>	[8]
Bryozoa	animal musgo	<i>Plumatella repens</i>	[5]
Artrópodos	Chinche	<i>Palomena prasina</i>	[5]
Basidiomycota	Hongo yesquero	<i>Fomes fomentarius</i>	[5]
Artrópodos	Escarabajos	<i>Omophlus</i>	[6]
Moluscos	Sepia	<i>Sepia</i> sp, <i>Sepia</i> spp	[6, 15]
Artrópodos	Escarabajos	<i>Pimelia</i>	[7]
Moluscos	Calamar	<i>Loligo chensis</i>	[30]
Artrópodos	Avispa	<i>Vespa crabro</i>	[11]
Tardigrada	Osos de agua	<i>Macrobiotus cf. hufelandi</i>	[31]
Artrópodos	Saltamontes	<i>Doclostaurus maroccanus</i>	[10]
Artrópodos	gamba blanca,	<i>Parapenaeus longirostris</i> ,	[32]
Chordata	Pez	<i>Labeo rohita</i>	[33]
Artrópodos	Mariposa	<i>Argynnis pandora</i>	[13]
Artrópodos	Cigala	<i>Nephrops norvegicus</i>	[34]
Artrópodos	Langosta	<i>Thenus orientalis</i> , <i>Duroniella fracta</i> , <i>Duroniella laticornis</i>	[15, 35]
Artrópodos	Cucaracha	<i>Periplaneta americana</i>	[36]
Artrópodos	Saltamontes	<i>Ailopus simulatrix</i> , <i>Ailopus strepens</i> , <i>Oedipoda miniata</i> , <i>Oedipoda caerulescens</i> , <i>Pyrgomorpha cognata</i>	[35]
Artrópodos	Abejas	<i>Apis mellifera</i>	[12]

Fuente: autor

1.1.4 Obtención de quitina y quitosano a partir de insectos

La quitina se encuentra en la cutícula de los insectos, en el procedimiento de extracción, el contenido de proteínas, minerales y pigmentos de las cutículas se separan de la matriz, usando productos químicos y así la estructura de la quitina puede ser extraída del mismo [7]. El proceso general, utilizado en los últimos años consta de cuatro etapas: preparación de la muestra, desmineralización, desproteínización y decoloración. El quitosano, principal derivado de la quitina, se

obtiene realizando una desacetilación de esta última, lo cual consiste básicamente en retirar el grupo acetil de la estructura de la quitina con hidróxido de sodio, obteniendo un biopolímero soluble en agua, lo cual lo hace más conveniente para algunas de sus aplicaciones [5, 8, 19, 23, 26, 37].

1.2 INSECTOS

Los insectos pertenecen al reino animal, presentan la mayor variedad de especies en el mundo y se encuentran poblando gran parte del planeta; así, por ejemplo, hay insectos presentes en los desiertos, en las altas cordilleras, en los pastizales, llanos y laderas; siendo prácticamente cualquier lugar, habitable para ellos. Los insectos sociales por excelencia son las termitas (orden Isoptera), algunas especies de abejas y avispa, y las hormigas (orden Hymenoptera), la vida en sociedad les proporciona ventajas en cuanto a la supervivencia de su especie, pues magnifica las oportunidades de defensa y facilita la construcción de refugios y la búsqueda de alimentos. [38].

Los insectos poseen un duro revestimiento conocido como cutícula, la cual es sólida pero flexible gracias a su contenido de quitina. La estabilidad química y rigidez que le proporciona la quitina a los insectos, les permite articular las estructuras extracelulares tanto duras (exoesqueleto) como blandas (matriz peritrófica) y los protege del medio ambiente permitiéndoles movilidad, comunicación, reparación y crecimiento. Los insectos son de vital importancia para la supervivencia del hombre en el planeta, debido a su papel como polinizadores y su importancia en la cadena trófica, adicionalmente, algunos de ellos como las abejas aportan a la economía mundial con la comercialización de sus productos como propóleos, miel, cera y jalea real, las cuales mejoran la dieta humana brindando un sinnúmero de beneficios [39, 40].

1.2.1 Abejas

Las abejas son insectos voladores con un tamaño variado (2 a 30 mm), pertenecientes al orden Hymenoptera, de las cuales existen más de 30.000 especies en el mundo. El tamaño de estas, varía de una especie a otra y algunas presentan su aguijón reducido. Hay abejas solitarias y abejas sociales, estas últimas no sobreviven solas durante mucho tiempo, su hogar se llama colmena y puede tener una o más reinas dependiendo la especie de las mismas [41].

La cantidad de individuos en una colmena de abejas, depende del género de las mismas, siendo las colmenas de *Apis mellifera* las que tienen mayor número, pudiendo albergar a más de 80.000 individuos, pues su reina puede poner alrededor de 1.500 huevos por día durante toda su vida útil (2 a 5 años). Estas abejas conocidas comúnmente como abejas de miel por ser las mayores productoras de este alimento, forman parte de una colonia o familia llamada colmena, en la cual hay una estructura social definida, integrada por una reinas, zánganos (machos) y obreras (hembras). El porcentaje de quitina contenido en la cutícula de estos insectos, oscila entre el 30% y el 50% de su peso; por lo cual, dado su tiempo de vida relativamente corto, pues las obreras viven aproximadamente 36 días en verano, las abejas muertas podrían tener uso potencial como materia prima para la obtención de quitina. En el año 2001, Nemtsev, S. V. y colaboradores informaron la existencia de aproximadamente 3457, 5 colmenas en Rusia, se estima que el peso de cada una de ellas es de aproximadamente 3,5 – 4,0 kilogramos. En verano, durante la producción de miel y en la primavera después del invierno cada familia de abejas, se renueva el 60 - 80%, de este modo, si se recolectaran al morir estos insectos, se podrían obtener de 6 hasta 10 mil toneladas de abejas muertas al año solamente en Rusia. **[9, 42]**

En Colombia, el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural presentó el plan estratégico de acción para la cadena de las abejas y de la Apicultura 2011 – 2025; en el cual, se estimó la existencia de 50.000 a 90.000 colmenas de *Apis mellifera* en el 2012, mostrando un incremento de 25% de las colmenas con respecto al año 2006. **[43]**

1.2.2 Avispas

Las avispas pertenecen al orden Himenóptera y componen la gran mayoría de insectos parasitoides. Las avispas que construyen nidos al igual que la mayoría de las hormigas, son depredadoras; la madre pica a la presa con su aguijón, paralizándola de esta forma y trasladándola a su nido para alimentar a las larvas, algunos de los pequeños insectos que caza contribuyen al control biológico de algunos cultivos. La mayoría de las avispas son insectos sociales, pero existen algunos ejemplares solitarios. Casi todas las especies de avispas poseen un veneno que inyectan a través del aguijón, como mecanismo de defensa. El ciclo de vida de las avispas depende del clima y del sexo, por ejemplo las avispas fértiles (reinas) viven alrededor del año mientras que las avispas obreras (hembras) viven de 2 a 4 semanas y los zánganos (machos fértiles) pueden llegar a vivir un par de meses. Las

avispas nacen en los meses cálidos del año y mueren en invierno a excepción de la reina, debido a que esta es capaz de invernar [41, 44].

1.2.3 Hormigas

La familia Formicidae a la cual pertenecen las hormigas, agrupa a 12 subfamilias, las cuales tienen alrededor de 350 géneros y 9.000 a 20.000 especies. Todas las especies de hormigas conocidas son “eusociales” o altamente sociales, su sociedad es considerada una de las más complejas del reino animal. Algunas especies de estos diminutos insectos, forman colonias que agrupan hasta 300 millones de individuos en un solo nido y allí cada uno de ellos cumple tareas específicas en pro del bienestar de la colonia. Estos insectos son depredadores, se alimentan de otros artrópodos, incluyendo insectos y se encuentran en casi todas las regiones del planeta, con excepción de los polos y los glaciares, su longevidad depende de la especie de las mismas [40]. Las familias están compuestas por machos, hembras fértiles e infértiles y obreras. Los machos son veloces, después del vuelo matrimonial con una de las reinas (generalmente una por hormiguero), mueren y las obreras se ocupan de todas las tareas: cuidado de las crías, construcción y defensa del hormiguero. Este insecto del orden de los himenópteros tiene un tamaño de 0,2 a 6,0 cm de longitud, que varía entre los diferentes géneros. Entre las más conocidas se encuentran la hormiga negra, la hormiga colorada y la hormiga deshojadora [41].

1.2.4 Termitas

Las termitas son insectos que se mantienen en manadas de millares de individuos, representando una gran importancia en la cadena alimenticia de numerosas especies, se caracterizan porque su cuerpo es blando y amarillento y un tamaño de 0,4 a 1,4 cm. Las colonias de termitas están conformadas por: reina, termitas obreras pequeñas y delegadas y termitas soldados que tienen grandes mandíbulas. Estos insectos desempeñan una función transcendental como consumidores primarios de celulosa y descomponedores de materia orgánica, madera y mantillo, gracias a ciertos microbios presentes en el interior de su intestino. Las termitas se dividen en dos grupos: las denominadas termitas inferiores, representadas por las familias *Mastotermitidae*, *Hodotermitidae*, *Termopsidae*, *Kalotermitidae*, *Serritermitidae* y *Rhinotermitidae*; y las termitas superiores representadas por la familia *Termitidae*. La familia *Termitidae* abarca aproximadamente el 70% de todas las especies del orden Isóptera a nivel mundial, con aproximadamente 1.900 de las 2.800 especies conocidas de estos insectos. Las termitas se alimentan de

tejidos leñosos; su preferencia por el estado de descomposición de estos tejidos varía de acuerdo a la especie, al igual que la cantidad de individuos en la colonia, pudiendo oscilar entre 1.000 - 2.000 individuos [41, 45, 46].

1.3 METALES PESADOS

La expresión “metal pesado” se refiere a cualquier elemento químico metálico que tenga una densidad mayor o igual a 5 g/cm³ y sea tóxico o venenoso en concentraciones inclusive muy bajas. Los metales pesados constituyen un grupo alrededor de los 40 elementos de la tabla periódica entre ellos cadmio (Cd), cromo (Cr), mercurio (Hg), talio (Tl), plomo (Pb) y algunos metaloides, como el arsénico (As). Los metales pesados son componentes naturales de la corteza terrestre y están presentes en forma de sales y minerales generalmente. Una de las características principales de los metales pesados, es que aun cuando muchos de ellos son fundamentales para el crecimiento como el Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni y Zn, se ha observado que llegan a tener efectos tóxicos sobre las células a determinadas concentraciones, debido especialmente a su capacidad para modificar o desnaturalizar las proteínas. Estos elementos no se degradan o destruyen fácilmente de forma natural o biológica, puesto que no tienen funciones metabólicas determinadas en los seres vivos. Debido a su movilidad en los ecosistemas acuáticos naturales y a su toxicidad para las formas superiores de vida, los iones de metales pesados han sido catalogados como contaminantes inorgánicos con prioridad a nivel ambiental. Para la descontaminación de estos metales en el medio ambiente, se utilizan generalmente tres clases de procesos biotecnológicos: la biosorción; la precipitación extracelular y la captación a través de biopolímeros purificados y de otras moléculas especializadas, derivadas de células microbianas [47, 48].

1.3.1 Cromo

Este metal de transición existe en varios estados de oxidación, desde Cr [0] forma metálica, hasta su forma hexavalente, Cr [VI]. A lo largo de la historia, se ha utilizado ampliamente en la preparación de las aleaciones de acero, pues al mezclarlo junto con el hierro, lo vuelven más resistente a la abrasión y la corrosión; también forma parte de curtientes, aleaciones, pinturas, pigmentos, conservantes textiles, catalizadores, antiincrustantes, lodos de perforación, agentes anticorrosivos, baterías de alta temperatura, fungicidas, conservantes de madera, recubrimientos metálicos y electrogalvanizados, entre otros. Tanto la forma trivalente (Cr [III]) como la hexavalente (Cr [VI]) se consideran importantes desde

el punto de vista ambiental, siendo el hexavalente mucho más tóxico que el trivalente. El Cr [VI] es considerado tóxico a concentraciones superiores a 0,05 mg/L en agua potable y se ha demostrado que posee propiedades mutagénicas y carcinogénicas [3, 4, 49].

1.3.2 Biosorción

La biosorción es una técnica de remoción de metales pesados, en la cual se utilizan materiales de origen biológico. Esta técnica presenta diversas ventajas, entre ellas la operación simple y bajo costo; sin embargo, la selectividad de la misma es relativamente baja, puesto que en su mayoría los materiales de origen biológico tienen afinidad para reaccionar con un amplio número de iones metálicos. Habitualmente, el proceso biosorción se ve afectado por diversos factores como tiempo de contacto, concentración inicial de iones metálicos y pH [50].

La biosorción se presenta como una alternativa a las tecnologías tradicionales utilizadas para el tratamiento de aguas residuales industriales que contienen metales pesados, tales como cromo, níquel, cadmio, plomo y mercurio. Se ha encontrado que la aplicación de materiales poliméricos de origen biológicos que son biodegradables e inofensivos al ser humano y al medio ambiente presentan un buen desempeño en el tratamiento de aguas residuales industriales, teniendo en cuenta que estas son una graves amenazas para la salud pública debido a la alta toxicidad [51, 52].

1.4 TÉCNICAS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL

Las técnicas de análisis son un conjunto de instrumentos, métodos y procedimientos, que permiten realizar análisis cualitativos y cuantitativos sobre diferentes características y propiedades de las muestras [49]. En este proyecto se hará uso de la técnica espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), para conocer información cualitativa sobre las quitinas obtenidas de los diferentes insectos. También se realizará análisis termogravimétrico (TGA) simultáneo con calorimetría diferencial de barrido (DSC) para obtener información sobre el comportamiento térmico de las mismas y se empleará la espectrometría de absorción atómica (AA) para evaluar la reducción de cromo debida a la quitina en una solución de concentración conocida.

1.4.1 Espectrometría infrarroja con transformada de Fourier FTIR

Esta técnica de análisis instrumental fue puesta a disposición comercial en la década de 1970, es una técnica analítica ampliamente utilizada en diversos campos de la química con la finalidad de identificar sustancias tanto inorgánicas como orgánicas, utilizando la fracción infrarroja del espectro electromagnético. El espectro infrarrojo se divide en tres regiones: 200 cm^{-1} a 10 cm^{-1} (lejano), 4000 cm^{-1} a 200 cm^{-1} (medio) y 12800 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} (cercano); siendo el infrarrojo medio, el más utilizado en la identificación de una gran variedad de compuestos. Los equipos empleados en la espectrometría infrarroja se denominan espectrofotómetros y se caracterizan por su gran velocidad, alta resolución, excelente precisión y exactitud en cuanto a la longitud de onda. Esta espectrometría mide la absorción de la radiación infrarroja por el material de la muestra frente a una longitud de onda, arrojando como resultado un espectro infrarrojo, cuyas bandas de absorción permiten identificar los componentes moleculares y estructuras de la muestra; por lo cual, con su uso, es posible efectuar una caracterización de los materiales analizados. Esta técnica se ha utilizado ampliamente en los diversos estudios realizados para la caracterización de quitina obtenida a partir de diferentes materias primas. **[49, 53]**

Esta técnica se ha utilizado para identificar la quitina extraída a partir de diferentes especies animales y para distinguir entre los alomorfos (α y β) de la misma, puesto que estas dos formas presentan una banda característica que sirve para su diferenciación. La forma α -quitina tiene enlaces intra e inter moleculares que vibran alrededor de los $1650, 1620\text{ cm}^{-1}$, mientras que la forma β -quitina solo tiene enlaces de hidrogeno intramoleculares, que son débiles y como consecuencia se observa una única banda alrededor de los 1650 cm^{-1} . Adicionalmente, esta técnica espectroscópica se ha utilizado para evaluar cuantitativa el grado de N acetilación (DA) del quitosano, mediante diversos procedimientos que utilizan la relación de las bandas de absorbancia seleccionadas. **[54, 55]**

1.4.2 Análisis Termogravimétrico (TGA)

Si se aumenta de manera uniforme la temperatura del ambiente que rodea a un sólido se produce una transferencia de energía calorífica al sólido y las transformaciones químicas que tienen lugar durante el ciclo de calentamiento producen variaciones de masa. En el análisis termogravimétrico (TGA), se mide la masa de la muestra sólida en función de la temperatura del ambiente que la rodea, bajo una atmosfera controlada. Tanto esta técnica como la calorimetría diferencial de barrido (DSC) proporcionan registros experimentales que son característicos del material estudiado, siendo con frecuencia tan específico el comportamiento de las

sustancias que permite su identificación en mezclas simples. El resultado de un análisis de este tipo es un termograma, curva termogravimétrica o curva de descomposición térmica, que representa la variación de la masa (generalmente porcentaje de pérdida de masa) en función de la temperatura o del tiempo. Para una muestra dada, la variación de la masa en función de la temperatura suministra información sobre la estabilidad térmica y composición de la misma, la estabilidad térmica y composición de los intermedios que puedan formarse durante el análisis y de la composición del residuo que queda al final del mismo **[56-58]**. Instrumentación.

El instrumento requerido para los análisis termogravimétricos consta básicamente de una balanza analítica, un horno con rango de temperatura desde ambiente hasta 1500°C, un sistema de gas de purga para proporcionar una atmósfera inerte y un microprocesador/microordenador para el control del instrumento y visualización de datos **[59]**.

En los últimos años se ha utilizado el análisis termogravimétrico en la caracterización de la quitina obtenida a partir de diferentes fuentes, como en el caso de Sagheer, 2008 y kaya, 2015, que obtuvieron quitina a partir de artrópodos, entre ellos insectos y crustáceos como abejas, saltamontes, cangrejos y camarones. En estos estudios se encontraron dos pérdidas de peso, debidas a la evaporación del agua y a la descomposición del polímero **[12, 15, 35]**.

1.4.3 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Es una técnica termoanalítica en la cual se miden las diferencias en la cantidad de calor aportado a una sustancia y a un material de referencia en función de la temperatura de la muestra cuando las dos están sometidas a un programa controlado de temperatura. Esta técnica es común para determinar transiciones de fase en compuestos inorgánicos, polímeros y alimentos, su uso permite medir la capacidad calorífica aparente de una disolución macromolecular como una función continua de la temperatura, obteniéndose así lo que comúnmente se denomina termograma. A partir de esta función es posible, determinar los parámetros termodinámicos asociados a la transición inducida por la temperatura: cambios de entalpía (ΔH), de entropía (ΔS), de energía libre de Gibbs (ΔG) y de la capacidad calorífica (ΔC_p) **[57, 60, 61]**.

1.4.4 Aplicación TGA Y DSC

Los métodos termogravimétricos tienen aplicaciones tanto en investigación como en control de calidad de productos industriales como metales, aleaciones, polímeros, productos farmacéuticos, arcilla y minerales. El análisis termogravimétrico es una técnicas que se ve restringida en sus aplicaciones, ya que en este método el analito cambia su masa debido a la variación de temperatura, presentándose reacciones de descomposición y de oxidación o procesos tales como la vaporización, sublimación y la desorción. El análisis térmico diferencial tiene varias aplicaciones en la industria farmacéutica para valorar la pureza de las muestras de medicamentos, por lo general los termogramas suministran resultados con una incertidumbre relativa de $\pm 10\%$ [59].

1.4.5 Espectroscopia de absorción atómica (AA)

Esta técnica de análisis instrumental es relativamente reciente, pues se introdujo en 1955 con los trabajos del científico australiano A. Walsh en su escrito “Aplicación de la espectroscopia de absorción atómica al análisis químico”. Esta técnica permite la detección y determinación de elementos químicos metálicos en muestras líquidas, por lo cual es necesaria la transformación de muestras sólidas mediante digestión vía húmeda o seca para su correspondiente análisis. En el análisis mediante AA, se lleva a cabo la ruptura y descomposición de la muestra en los átomos que la componen mediante una llama u horno de grafito. Esta técnica ha sido utilizada ampliamente para la cuantificación de diversos metales en una amplia gama de muestras que incluyen agua, sangre, suelos, solventes orgánicos, plantas, tejidos animales, bebidas y alimentos sólidos, entre otros [49, 52, 62]. El principio básico de la absorción atómica consiste en aplicar energía característica del elemento a determinar, en forma de radiación monocromática, utilizando una lámpara de cátodo hueco. La energía utilizada para la excitación debilita la luz irradiada, siendo la debilitación directamente proporcional a la cantidad de átomos del elemento; siendo así esta técnica, una herramienta útil para la determinación de la concentración de elementos metálicos en una muestra [59].

El diseño de un equipo de espectrometría de absorción atómica, básicamente constante de: fuente de radiación, zona de muestra, sector de longitud de onda, detector, procesador de la señal y lectura de salida. Los instrumentos de absorción atómica comerciales se dividen en dos: diseños de haz sencillo y doble luz, diferenciados por el coste y la complejidad [59].

1.4.5.1 Aplicaciones de Espectroscopia de absorción atómica

Esta técnica es útil para la determinación cuantitativa de más de 60 elementos metálicos o metaloides, entre ellos Al, As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sn y Zn. Los límites de detección por absorción atómica de llama y electroquímica para el cromo por ejemplo, son de 3 y 0,01 ng/mL respectivamente. En un análisis de absorción con llama, llevado a cabo en condiciones normales, el error relativo oscila entre el 1 y el 2%; sin embargo, esta cifra puede disminuir dependiendo el adecuado tratamiento de la muestra.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Caracterizar quitosano obtenido a partir de quitina de cuatro especies de insectos y para su posible uso en remoción de cromo en agua.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS





- ✓ Obtener quitosano a partir de la quitina extraída de cuatro insectos diferentes: hormigas, avispas, abejas y termitas presentes en Norte de Santander.
- ✓ Determinar porcentaje de humedad, pérdida de peso, y transiciones térmicas de la quitina y el quitosano obtenidos mediante TGA/DSC.
- ✓ Determinar grupos funcionales presentes en las muestras de los biopolímeros usando FTIR.
- ✓ Evaluar preliminar de su posible uso en remoción de cromo hexavalente en una solución acuosa de concentración conocida.
- ✓ Realizar análisis estadístico ANOVA para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre las muestras de quitina y quitosano.

3. METODOLOGÍA

3.1 MUESTREO

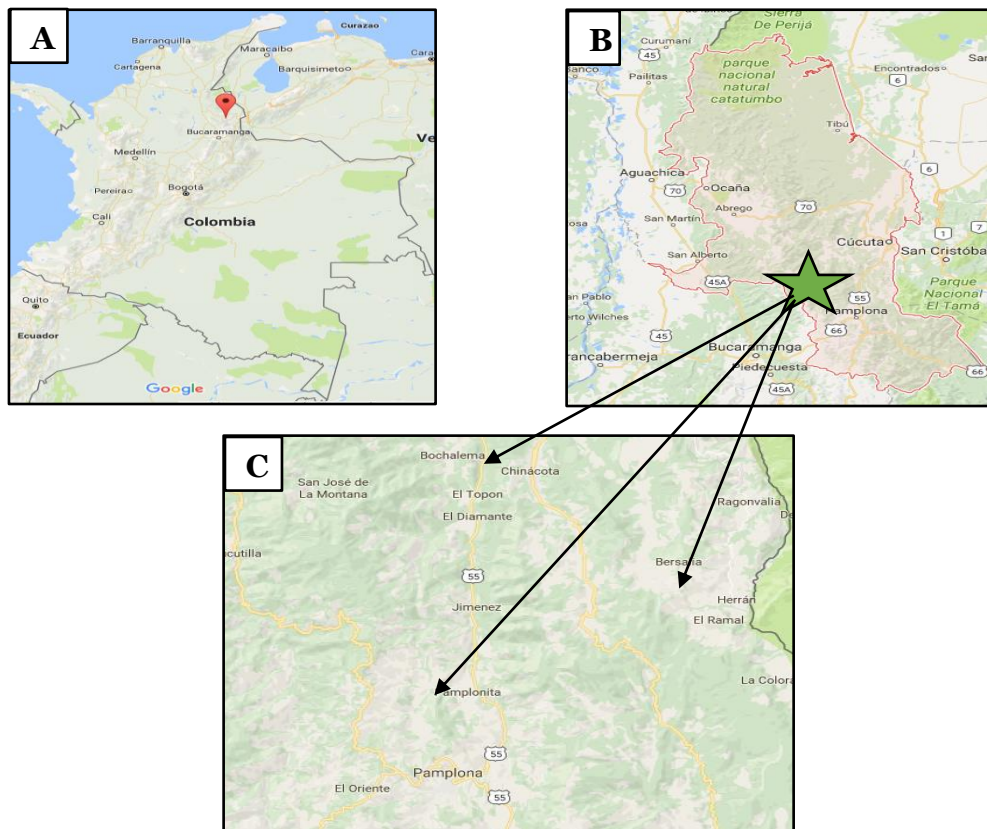
Las muestras de insectos se tomaron de nidos ubicados en diferentes municipios de Norte de Santander, dependiendo la disponibilidad de los mismos (tabla 2 y figura 4). Una vez recolectadas las muestras, se trasladaron al laboratorio de Biocalorimetría de la Universidad de Pamplona, en donde se llevó a cabo la identificación de las especies, con la colaboración de Wolfgang Hoffmann y posteriormente se procedió a su limpieza y manipulación.

Tabla 2. Características de zona de muestreo

Muestra	Especie	Lugar	Imágenes
Abejas	<i>Apis Mellifera Africanizada</i>	Herrán, finca los curos.	
Avispas	<i>Polistes erythrocephalus</i>	Pamplonita, Granja Experimental Villa Marina.	
Hormigas	<i>Atta cephalotes</i>	Pamplonita, Granja Experimental Villa Marina	
Termitas	<i>Nasutitermes sp</i>	Chinacota, vereda manzanares, finca el amparito.	

Fuente: autor

Figura 4. Ubicación zona de muestreo (a) Colombia (b) Norte de Santander (c) Chinacota Pamplonita y Herrán

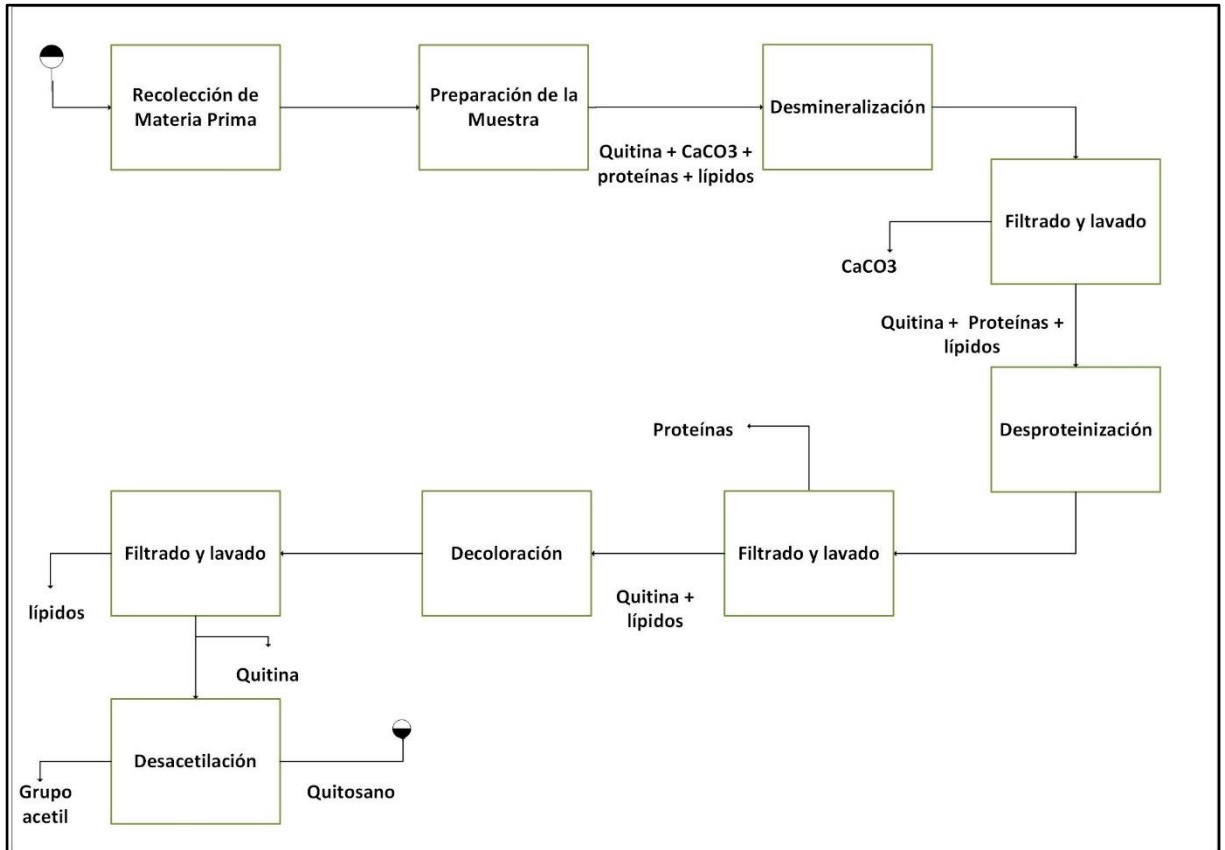


Fuente :Google Maps, 2016 [63]

3.2 EXTRACCIÓN DE QUITINA Y OBTENCIÓN DE QUITOSANO

Para la extracción de quitina y su desacetilación para obtener quitosano, se utilizó el protocolo propuesto por Gonil (2012); Sierra (2013); Kaya (2015 y 2016) y Chandrana (2016) [5, 6, 19, 26, 37], que incluye las etapas mostradas en el diagrama de bloques expuesto en la figura 5.

Figura 5. Diagrama de bloques obtención de quitina



Fuente: autor

A continuación se describen los protocolos experimentales de cada etapa del proceso de extracción de quitina y obtención de quitosano:

- ✓ **Preparación de la muestra:** se trataron: 36,4678g (abejas), 5,8374g (avispas), 37,7150g (hormigas) y 4,5686g (termitas), se lavaron con agua destilada con el objetivo de remover materia orgánica adherida y posteriormente se secaron en un horno por 7 días a 50°C, con la finalidad de determinar su contenido de humedad. Por último, la materia prima seca se maceró utilizando un mortero.
- ✓ **Desmineralización:** en este paso se llevó a cabo la remoción del carbonato de calcio, con una solución de ácido clorhídrico 1,93 M, a una temperatura de 50°C durante cuatro horas, con agitación constante, utilizando una plancha con agitación magnética (Framo-Gerätetechnik,

Alemania). Después de este proceso, se filtró al vacío, realizando varios lavados con agua destilada hasta alcanzar un pH neutro.

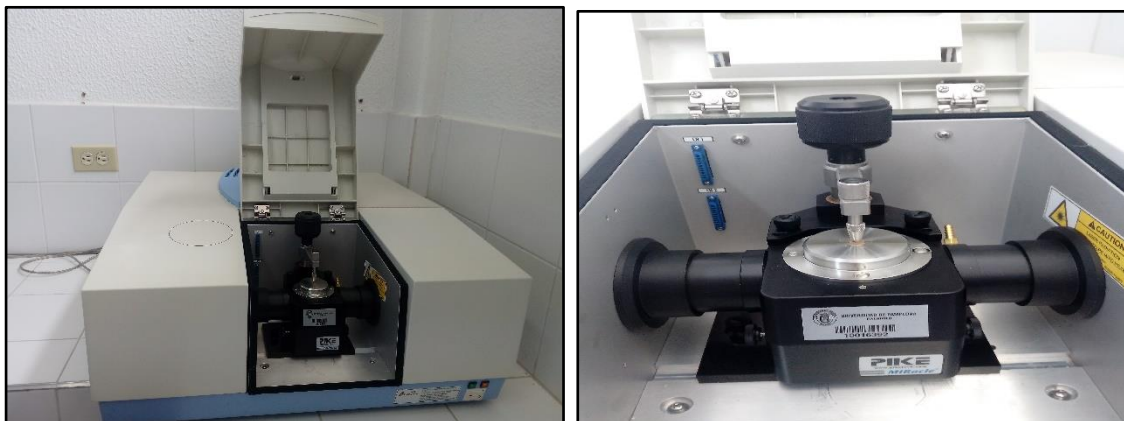
- ✓ **Desproteínización:** Se removieron las proteínas con ayuda de una solución 2M de NaOH a 100°C con agitación constante durante 20 horas, utilizando una plancha con agitación magnética (Framo-Gerätetechnik, Alemania). Al final del proceso se filtró al vacío y se realizaron varios lavados con agua destilada hasta alcanzar nuevamente un pH neutro.
- ✓ **Decoloración:** En este paso se llevó a cabo la eliminación de pigmentos y aceites presentes en la muestra, haciendo uso de metanol, cloroformo y agua destilada, en relación 2:1:4 respetivamente. La decoloración se realizó a temperatura ambiente durante dos horas y posteriormente se filtró y se lavó con agua destilada hasta alcanzar pH neutro. La quitina obtenida se secó en una mufla (Vulcan 3-550, Estados Unidos) a 50°C durante tres días.
- ✓ **Desacetilación:** Se utilizó NaOH al 45 % para retirar el grupo acetyl de la estructura de la quitina, para la obtención de quitosano. Este procedimiento se llevó a cabo por una hora a 100°C, bajo agitación magnética constante (Framo-Gerätetechnik, Alemania). El quitosano se filtró y lavó con agua destilada hasta alcanzar pH neutro y se secó en una mufla (Vulcan 3-550, Estados Unidos) por 3 días a 50 °C.

3.3 CARACTERIZACIÓN DE LA QUITINA Y EL QUITOSANO

3.3.1 Espectrometría infrarroja con transformada de fourier (FTIR)

Se utilizó un espectrofotómetro infrarrojo FT-IR *SHIMADZU Prestige 21* con ATR, con el cual se analizaron las muestras en un intervalo de número de onda desde 600 hasta 4000 cm^{-1} con un total de 40 scan y una resolución de 4 cm^{-1} . Los análisis de los espectros FT-IR se realizaron cualitativamente, utilizando el *software Origin 8* (versión de prueba).

Figura 6. Espectrofotómetro infrarrojo FT-IR SHIMADZU Prestige-21 con ATR

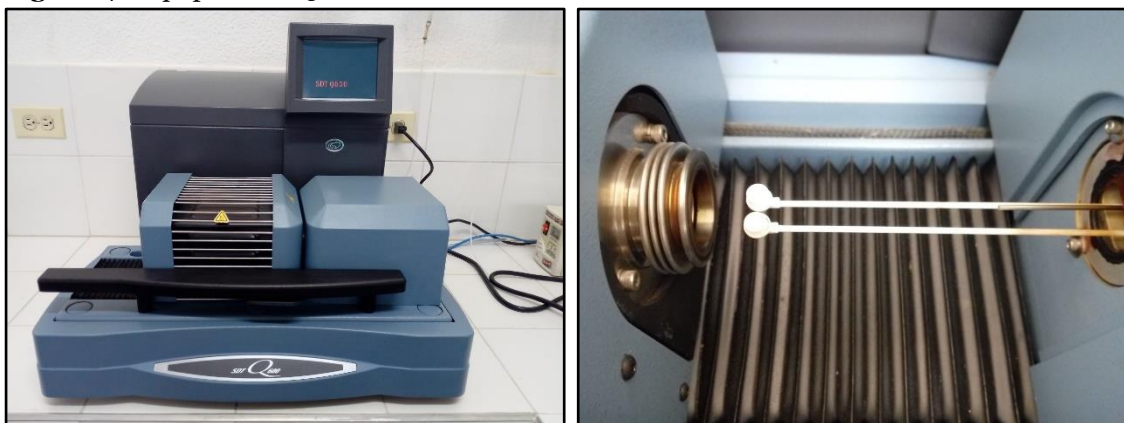


Fuente: laboratorio de biocalorimetría universidad de pamplona

3.3.2 Termogravimetría simultánea con calorimetría diferencial de barrido (TGA/DSC)

La caracterización térmica de los biopolímeros, se llevó a cabo mediante un equipo SDT-Q600 de *TA Instruments*, de la siguiente forma: ~10 mg de compuesto se analizaron en un intervalo de temperatura ambiente hasta 710°C con una rampa de calentamiento de 10°C/min, en atmósfera inerte de nitrógeno y con un flujo de 100 mL/min, según la metodología recomendada por Kaya, 2016 [6]. El tratamiento de los datos se llevó a cabo utilizando el *software TA Universal Analysis 2000* (*TA Instruments, Delaware, USA*) y los paquetes estadísticos *Statgraphics* y *Origin 8.0* (versión de prueba).

Figura 7. Equipo SDT-Q600 de TA Instruments



Fuente: laboratorio de biocartometría universidad de pamplona

3.4 Evaluación preliminar de su posible uso en remoción de cromo.

Para determinar el posible uso del quitosano obtenido, en la remoción de cromo hexavalente en muestras acuosas, se llevó a cabo una evaluación preliminar, exponiendo 10mg de quitosano en 50mL de una solución 55,35 mg/L, preparada con $K_2Cr_2O_7$ a 25°C durante 30 minutos con agitación constante (200 rpm) y pH 3,01, acorde a lo recomendado por Baran, 2007 [64]. Cada prueba se realizó por triplicado.

3.4.1 Espectroscopia de absorción atómica (AA)

La determinación de cromo, se realizó utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica *Shimadzu AA-7000*. Las 6 soluciones de la curva de calibración (0,5 ppm – 20 ppm) se prepararon con un estándar analítico (1000 ppm Cr, Merck) y se leyeron en el equipo a una longitud de onda de 429 nm, utilizando una llama de acetileno-aire. Las soluciones de dicromato de potasio, se diluyeron después del ensayo de remoción, tomando 10mL de las mismas y llevando con agua destilada a 50mL de solución.

Figura 8. Espectrofotómetro de absorción atómica Shimadzu AA-7000



Fuente: laboratorio control de calidad

3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos obtenidos se llevó a cabo mediante los paquetes *Origin 8.0* y *Statgraphics Centurion* (versión de prueba). Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) y el análisis multivariante de la varianza (MANOVA) para encontrar si existían diferencias significativas entre los valores obtenidos para la quitina y el quitosano extraídos a partir de los diferentes insectos.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1.1 Cálculo de Humedad y porcentaje de quitina.

Se determinó la humedad mediante las diferencias de peso, después del secado por siete días haciendo uso de la ecuación 1.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} * 100 \quad (\text{Ecuación. 1})$$

Por otra parte, el porcentaje de quitina en los diferentes insectos, se calculó con la ecuación 2:

$$\% \text{ Quitina} = \frac{\text{gramos de quitina seca}}{\text{gramos de insecto seco}} * 100 \quad (\text{Ecuación. 2})$$

En la tabla 4 se dan los resultados del porcentaje de humedad y quitina para las diferentes muestras. Según estos resultados, los insectos con mayor contenido de humedad son las abejas y los insectos con menor contenido de humedad son las hormigas. Al realizar un análisis de varianza (ANOVA) a los datos obtenidos, se encuentra que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en los valores de humedad y quitina encontrados para las diferentes especies, con un 95% de confianza.

Tabla 3. Determinación de humedad de los insectos

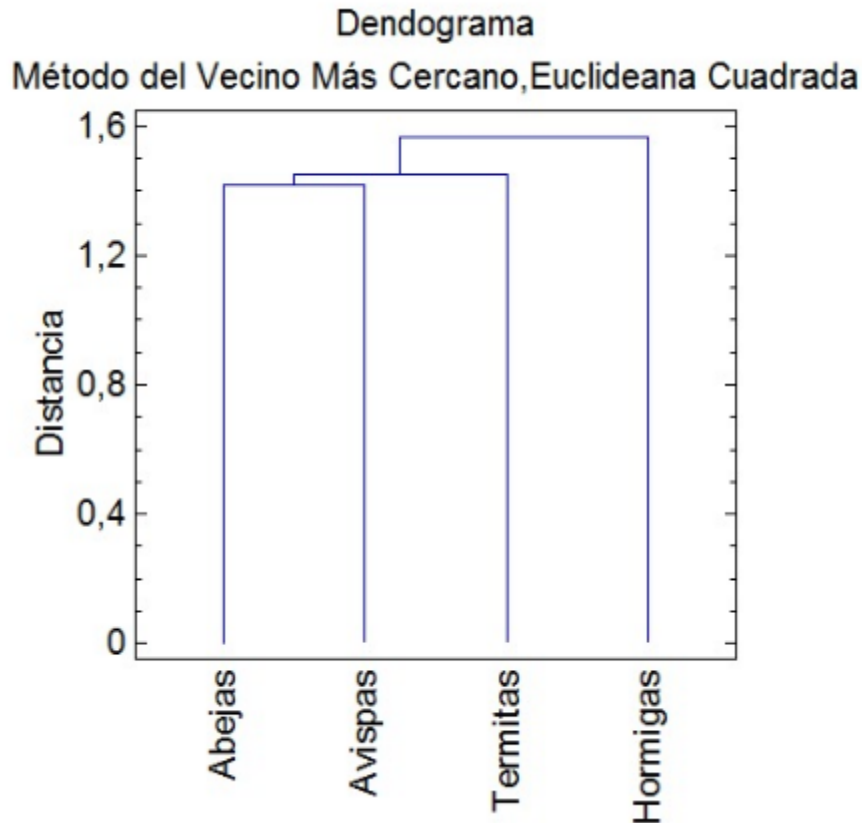
Especie	Contenido de quitina en peso seco (%)	Humedad (%)
<i>Apis Mellifera Africanizada</i>	6,27	69,97 ± 1,38
<i>Polistes erythrocephalus</i>	5,49	64,21 ± 0,77
<i>Atta cephalotes</i>	19,18	58,48 ± 4,89
<i>Nasutitermes sp</i>	12,42	61,70 ± 0,00

Fuente: autor

Para ver claramente la semejanza debida al contenido de humedad y quitina, entre los insectos estudiados, se realizó un análisis de conglomerados o cluster, usando el método del vecino más cercano, dando como resultado, el dendograma de la figura 8. En el dendograma, se puede observar que las abejas (*Apis Mellifera*

Africanizada) y las avispas (*Polistes erythrocephalus*) son las más cercanas en cuanto a su % de humedad y contenido de quitina entre sí, mientras que difieren en mayor medida de las hormigas (*Atta cephalotes*).

Figura 9. Dendograma



Algunos estudios, como el realizado por Muhammad, *et al* (2015), han calculado el porcentaje de quitina en diferentes partes de las abejas *Apis Mellifera* (cabeza, tórax, abdomen, patas y alas), encontrando que las patas de estos insectos, son las que tienen mayor contenido del carbohidrato (13,25%) [12]. En otras investigaciones realizadas, se ha estudiado el contenido de quitina en la metamorfosis de algunos insectos, hallando diferentes contenidos: 2,2% (fase larvaria), 6,2% (pupa) y 10,3% (adulto) [11]. Al comparar los diferentes valores publicados para los tipos de insectos, con los obtenidos en este estudio, se encuentra que las cantidades halladas para las abejas (*Apis Mellifera Africanizada*) son acorde a lo reportado por la literatura, mientras que la cantidad hallada para las avispas (*Polistes erythrocephalus*) corresponde al 46,73% de la cantidad publicada hasta el momento. En el caso de las hormigas (*Atta cephalotes*) y las

termitas (*Nasutitermes sp*) los valores no pueden ser comparados debido a que no hay a nuestro conocimiento estudios relacionados con la cantidad de quitina de estos insectos.

4.2 ESPECTROMETRÍA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

4.2.1 Quitina

Los espectros IR de la quitina extraída de las cuatro especies de insectos, se pueden observar en las figuras 9 a 12. Los espectros mencionados, presentan los tres picos característicos de la forma α de la quitina (1650, 1620 y 1550 cm^{-1}); lo cual, es acorde a lo esperado en la literatura, puesto que fue extraída del exoesqueleto de insectos. Las cadenas de este biopolímero en forma α son anti-paralelas, permitiendo que los grupos hidroxilos presentes formen puentes de hidrogeno intra e intermoleculares entre las diferentes cadenas de α -quitina, lo cual favorece la formación de agregados lineales de alta cristalinidad y a su vez ocasiona su insolubilidad en disolventes acuosos y en la mayoría de solventes orgánicos.

Otras bandas características en los espectros de quitina, son las debidas al estiramiento del grupo hidroxilo (-OH) alrededor de los 3433-3427 cm^{-1} y el estiramiento asimétrico y simétrico del grupo amina entre los 3260-3257 cm^{-1} y 3106-3000 cm^{-1} respectivamente. En la figura 13 se muestra una superposición de los 4 espectros IR obtenidos para la quitina extraída de las 4 especies de insectos; en los cuales, se puede observar la presencia de los picos característicos del biopolímero, señalados en sus espectros individuales (figuras 9-12) y en la tabla 5, donde se explica el grupo funcional correspondiente a cada banda.

Figura 10. Espectro FTIR de quitina extraída de abejas (*Apis Mellifera Africanizada*)

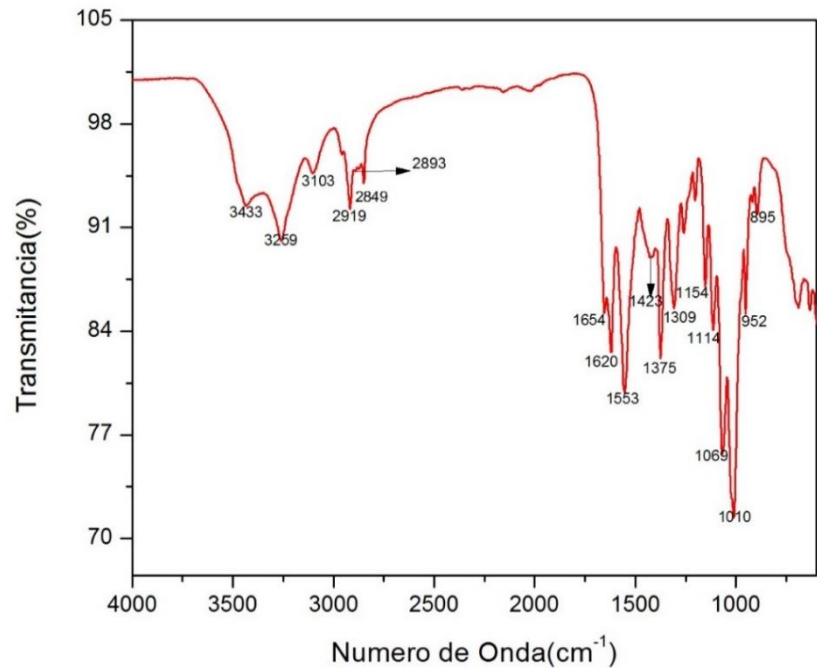


Figura 11. Espectro FTIR de quitina extraída de avispas (*Polistes erythrocephalus*)

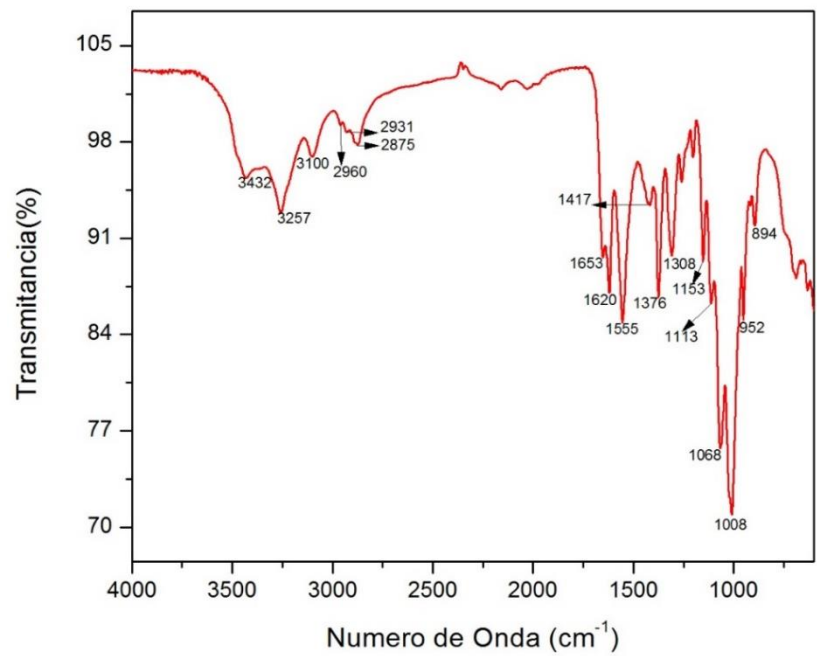


Figura 12. Espectro FTRI de quitina extraída de hormigas (*Atta cephalotes*)

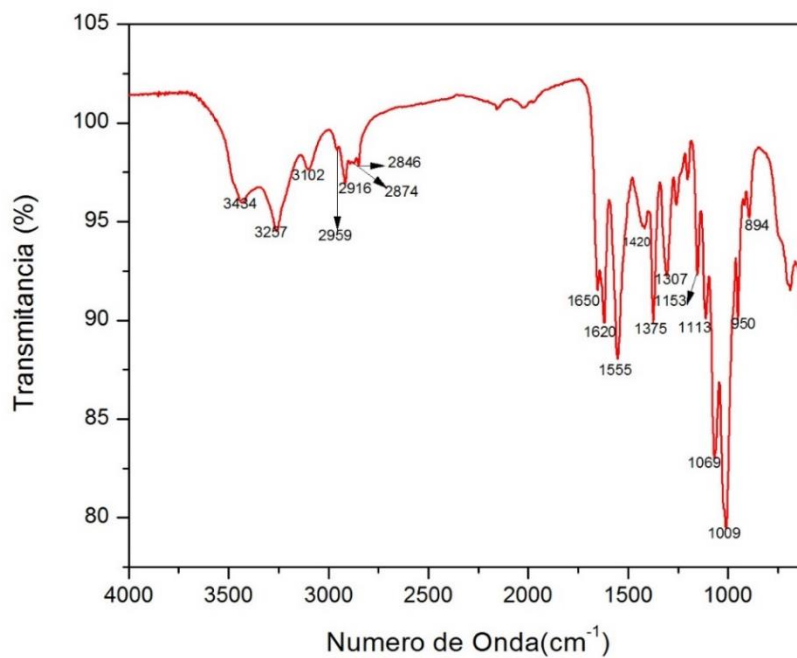


Figura 13. Espectro FTRI de quitina extraída de termitas (*Nasutitermes sp.*)

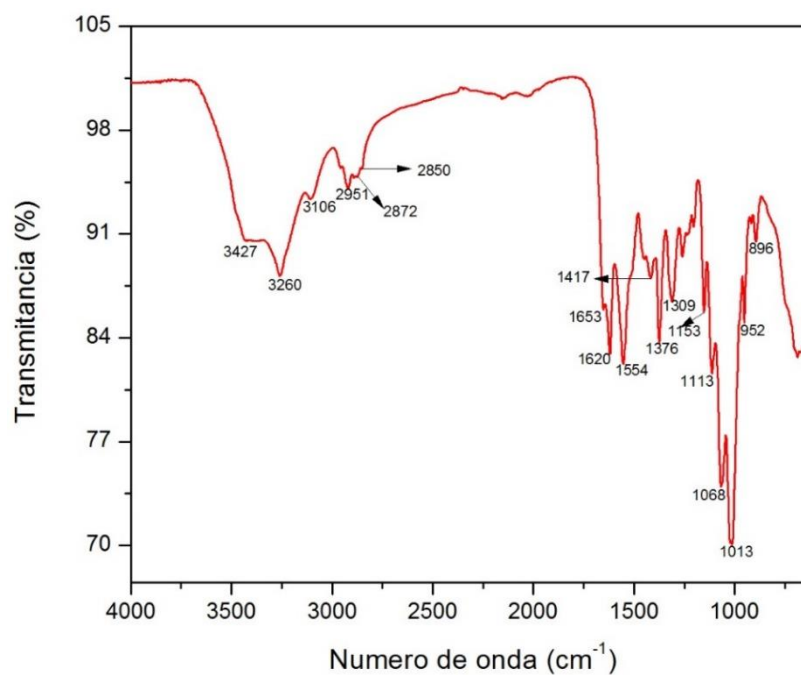
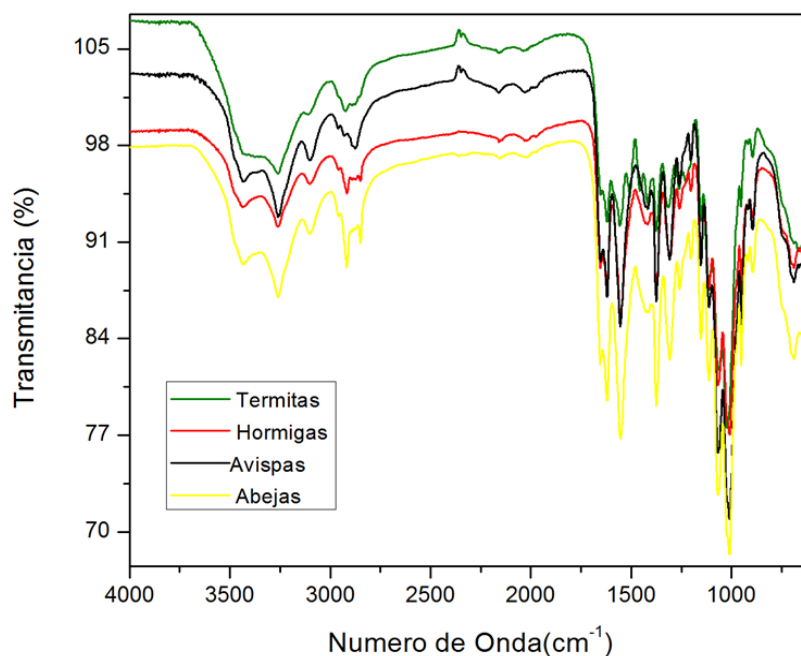


Figura 14. Espectro FTIR de las cuatro especies de insectos



Las bandas encontradas en los espectros infrarrojos de las diferentes especies, corresponden en su totalidad a las publicadas por otros autores que han aislado la quitina de otras especies de insectos, como Erdogan (2016) y Kaya (2015) [10-12] o a partir de crustáceos como Barros (2015) y Mohammed (2013) [27, 29].

Tabla 4. Datos de los espectros de la quitina de las cuatro especies de insectos

Grupo funcional	Clasificación	Número de Onda (cm ⁻¹)			
		<i>Apis mellifera Africanizada</i>	<i>Polistes erythrocephalus</i>	<i>Atta cephalotes</i>	<i>Nasutitermes sp</i>
Estiramiento O-H	-	3433	3432	3434	3427
Estiramiento asimétrico N-H	-	3259	3257	3257	3260
Estiramiento simétrico N-H	-	3103	3100	3101	3106
Estiramiento asimétrico C-H	Compuestos alifáticos	2919	2960-2931	2959-2916	2951
Estiramiento simétrico C-H		2849-2893	2875	2874-2846	2872-2850
Estiramiento amida secundaria C=O	amida I	1654	1653	1650	1653
Estiramiento amida	amida I	1620	1620	1620	1620

secundaria C=O					
Flexión de N-H y estiramiento de C-N	amida II	1553	1555	1555	1554
Deformación de CH ₂ y CH ₃ terminales	-	1423	1417	1420	1417
Flexión CH y deformación simétrica CH ₃	-	1375	1376	1375	1376
movimiento CH ₂	Amida III, componentes de la proteína	1309	1308	1307	1309
Estiramiento de los puentes de oxígeno	-	1154	1153	1153	1153
Estiramiento asimétrico modo anillo	-	1114	1113	1113	1113
Estiramiento asimétrico C-O-C	Anillos de sacáridos	1069	1068	1069	1068
Estiramiento asimétrico C-O	-	1010	1008	1009	1013
movimiento CH ₃		952	952	950	952
estiramiento CH en los anillos	Anillos de sacáridos a lo largo de la cadena	895	894	894	896

Fuente: autor

4.2.2 Quitosano

Los espectros IR del quitosano obtenido a partir de la quitina extraída de las cuatro especies de insectos (*Apis Mellifera Africanizada*, *Polistes erythrocephalus*, *Atta cephalotes*, *Nasutiermes sp*), se pueden observar en las figuras 14, 15, 16 y 17. Las principales características espectrales del quitosano son: doble banda de absorción, alrededor de 3351-3287 cm⁻¹, debido al estiramiento simétrico -OH y al estiramiento del -NH, una banda de menor tamaño a los 2915-2850 cm⁻¹ que corresponde al estiramiento de -CH, -CH₂- y -CH₃ y las tres señales alrededor de 1651, 1556 y 1373 cm⁻¹, de las amidas I, II y III respectivamente. En cuanto a la huella dactilar, se observan tres bandas alrededor de 1150 cm⁻¹, 1024 cm⁻¹ y 893 cm⁻¹, atribuidas al estiramiento C-O-C del anillo glucosídico, la tensión simétrica de C-O y la vibración esquelética del anillo de piranosa. Un reporte detallado de estas bandas, con los valores exactos del número de onda en el cual se presentaron para cada muestra de quitosano analizada, se dan a conocer en la tabla 6.

Figura 15. Espectro FTRI de Quitosano de *Apis Mellifera Africanizada*

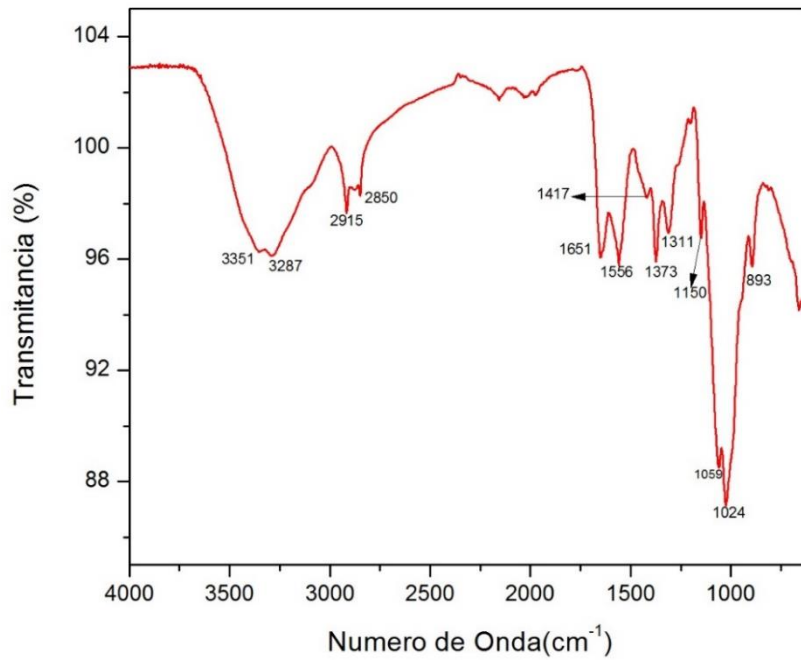


Figura 16. Espectro FTRI de *Polistes erythrocephalus*

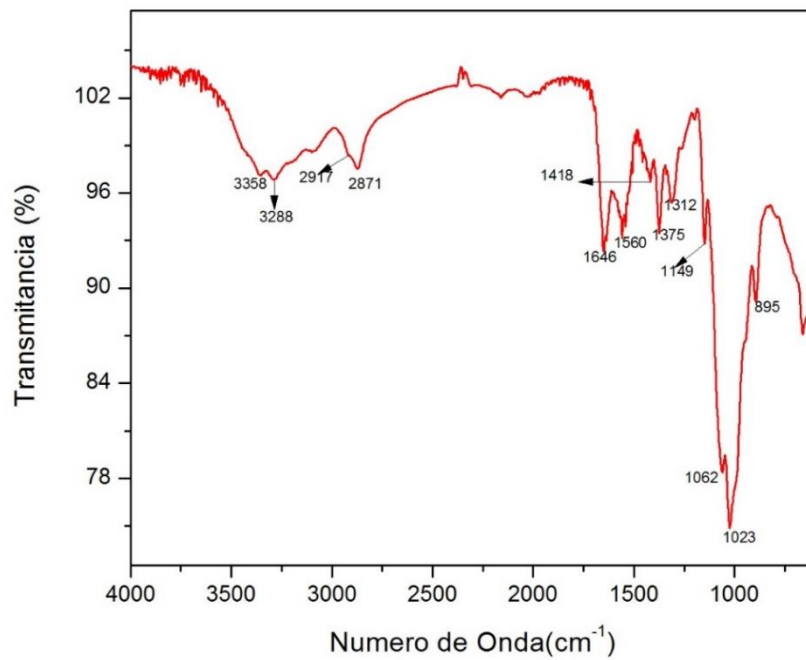


Figura 17. Espectro FTIR de Quitosano de *Atta cephalotes*

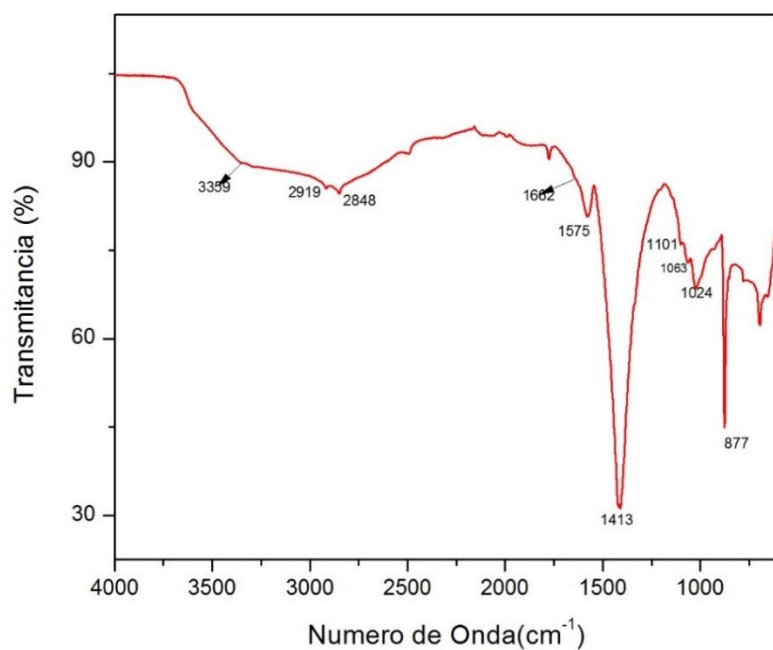


Figura 18. Espectro FTIR de Quitosano de *Nasutiermes sp.*

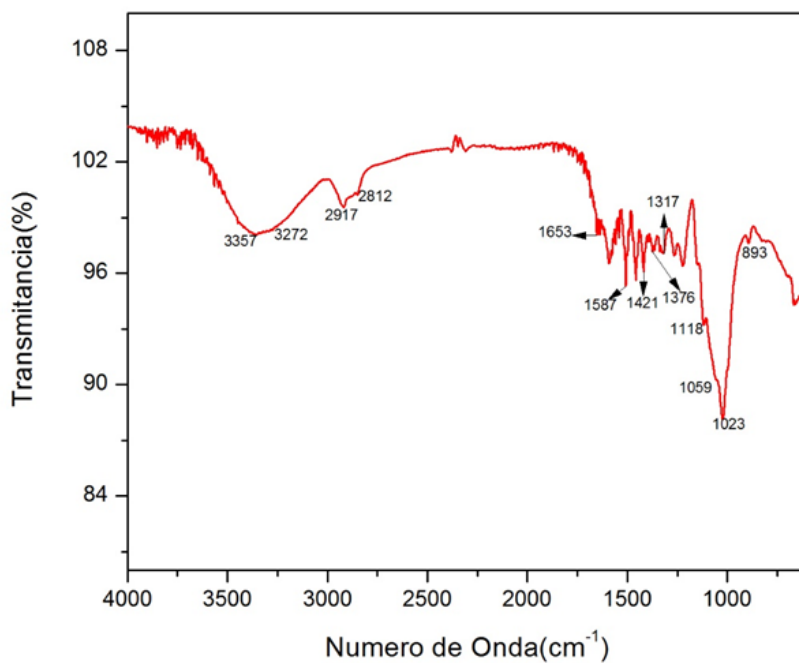


Tabla 5. Datos de los espectros de la quitosano de las cuatro especies de insectos

Grupo funcional	Número de Onda (cm ⁻¹)			
	<i>Apis mellifera Africanizada</i>	<i>Polistes erythrocephalus</i>	<i>Atta cephalotes</i>	<i>Nasutiermes sp</i>

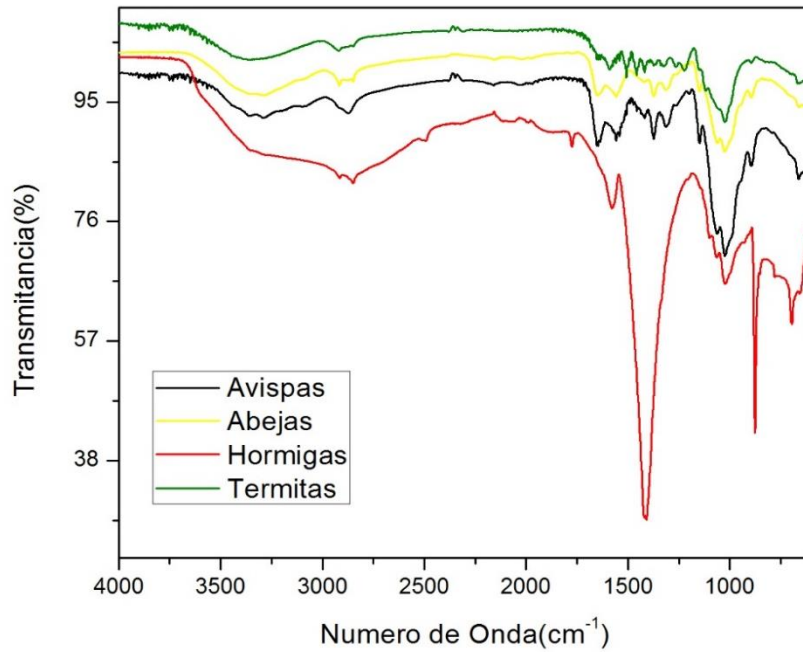
Estiramiento O-H	3351	3358	3358	3357
Estiramiento N-H	3287	3288	3290	3272
Estiramiento C-H	2915-2850	2917-2871	2910-2850	2917-2812
Tensión C=O, amida I	1651	1646	1643	1653
Flexión NH, amida II	1556	1560	1574	1587
Flexión C-H de CH ₂	1417	1418	1413	1421
Estiramiento C-N, amida III	1373	1375	1413	1376
C-N en el anillo de piranosa	1311	1312	1413	1317
Estiramiento C-O-C, enlace glucosídico	1150	1149	1104	1118
Tensión C-O para el C ₃	1059	1062	1062	1059
Tensión C-O para el C ₆	1024	1023	1025	1023
Vibración esquelética del anillo de piranosa	893	895	877	893

Fuente: autor

La información obtenida, concuerda con lo publicado por Akyuz (2016) [65] y paulino (2006) [66]. En la figura 18 se da un gráfico de los diferentes espectros IR superpuestos, en dicha figura se puede observar que los gráficos presentan las mismas señales, siendo la única diferencia, la intensidad de algunas de sus bandas, lo cual puede estar relacionado con el grado de desacetilación de las mismas.

Los resultados obtenidos mediante FTIR son satisfactorios tanto para la quitina como el quitosano, extraídos de las diferentes especies de insectos analizadas en este trabajo, esto indica que el proceso de extracción y obtención de dichos biopolímeros fue satisfactorio en todos los casos.

Figura 19. Espectro FTIR de los Quitosanos de las cuatro especies de insectos



4.3 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO

En las gráficas 20-23 se muestran los termogramas obtenidos mediante el análisis TGA/DSC para las diferentes especies (quitina y quitosano). Para cada muestra se determinó por triplicado: pérdida de masa, flujo de calor y temperaturas de transición endo-exotérmicas. Los datos obtenidos se dan a conocer en las tablas 7 y 8.

Figura 20. Termograma de A) Quitina y B) Quitosano obtenido a partir de abejas (*Apis Mellifera Africanizada*)

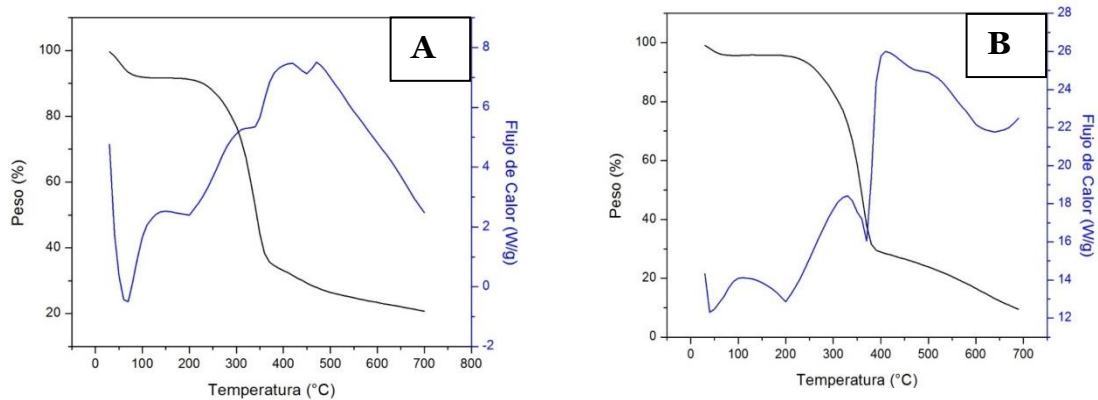


Figura 21. Termograma de A) Quitina y B) Quitosano obtenido a partir de avispas (*Polistes erythrocephalus*)

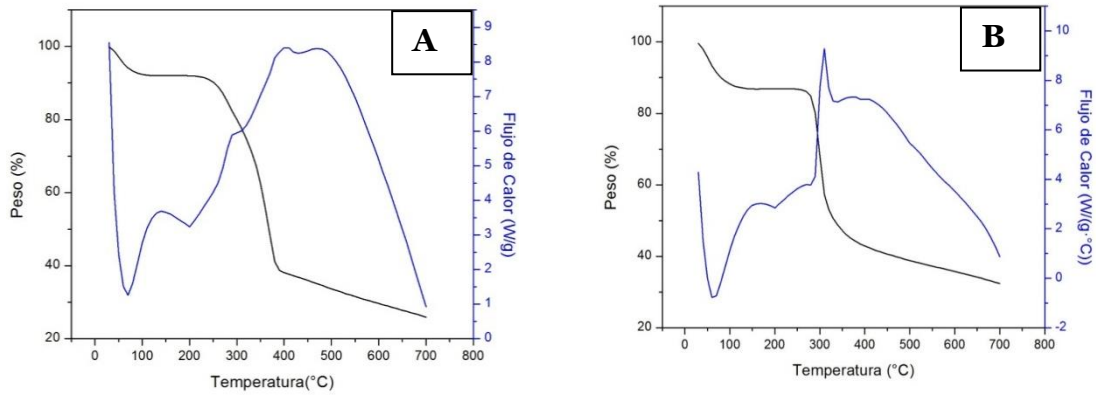


Figura 22. Termograma de A) Quitina y B) Quitosano obtenido a partir de termitas (*Nasutitermes sp*).

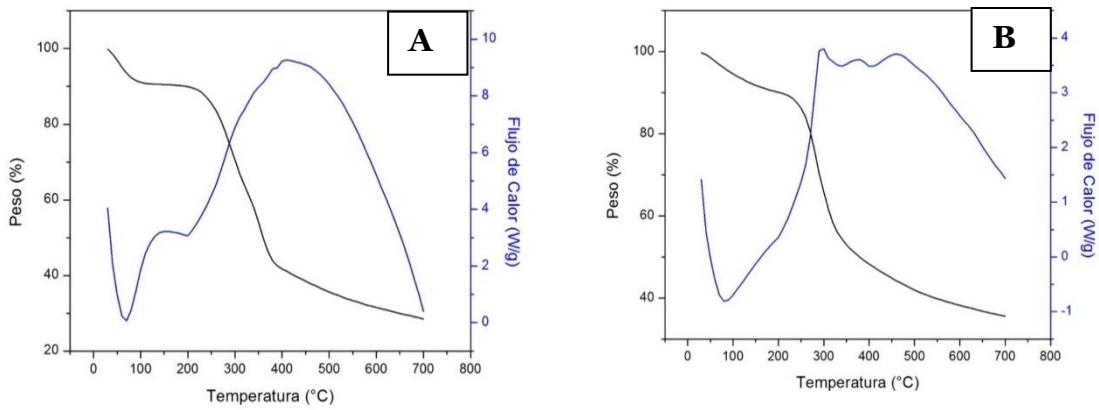


Figura 23. Termograma de A) Quitina y B) Quitosano obtenido a partir de hormigas (*Atta cephalotes*).

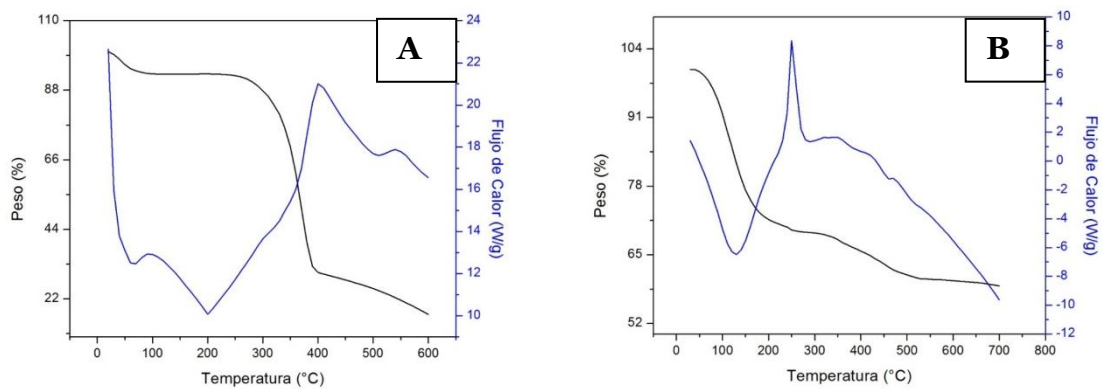


Tabla 6. Resultados TGA

Especies	Biopolímero	Temperatura 1 (°C)	Pérdida de masa (%)	Temperatura 2 (°C)	Pérdida de masa (%)
Abejas	Quitina	96,59 ± 1,08	8,69 ± 0,93	331,13 ± 13,45	51,55 ± 6,51
	Quitosano	47,69 ± 7,49	9,28 ± 0,06	316,32 ± 3,94	54,45 ± 16,07
Avispas	Quitina	50,1733 ± 1,1707	7,49 ± 0,79	367,73 ± 0,44	54,74 ± 0,95
	Quitosano	47,88 ± 2,46	11,74 ± 0,47	298,61 ± 0,00	43,67 ± 0,04
Hormigas	Quitina	45,58 ± 2,21	6,59 ± 0,55	373,60 ± 0,765	61,41 ± 1,88
	Quitosano	113,43 ± 8,1	22,63 ± 3,79	247,34 ± 3,33	3,89 ± 0,64
Termitas	Quitina	56,29 ± 5,21	9,75 ± 1,33	355,49 ± 2,79	48,22 ± 2,26
	Quitosano	57,58 ± 5,41	6,58 ± 0,22	282,93 ± 0,55	41,27 ± 0,48

Fuente: autor

Los termogramas de la quitina, registraron dos pérdidas de masa, la primera ($24,08 \pm 0,26 - 155,77 \pm 2,21$) se puede atribuir a la evaporación del agua y la segunda ($204,11 \pm 1,63 - 407,27 \pm 0,77$) a la termodegradación de las moléculas. Los porcentajes de pérdidas de masa se exponen la tabla 8 y se pueden ordenar de forma descendente, así: 8,69% (abejas), 7,65% (avispas), 6,59% (hormigas), y 7,49% (termitas), para la primera pérdida, y 51,55% (abejas), 54,74% (avispas), 61,41% (hormigas) y 48,22% (termitas), para la segunda pérdida.

A pesar de que el método de extracción para quitina, fue el mismo para los cuatro insectos, su biopolímero resultante, no presentó la misma estabilidad térmica, lo cual sugiere que las propiedades térmicas de la estructura de la quitina se relacionan con la especie de insectos de la que se haya extraído, pues al comparar las temperaturas máximas de degradación (DTG_{max}); se observó que este valor, fue mayor para la quitina obtenida de hormigas ($373,6^{\circ}C$), seguida de avispas ($367,73^{\circ}C$), termitas ($355,49^{\circ}C$) y por último abejas ($331,13^{\circ}C$).

Los resultados obtenidos para las temperaturas máximas de degradación, son acorde a los publicados por otros autores como Kaya, *et al* (2015), el cual muestra que la quitina en su forma α , presenta valores de DTG_{max} que oscilan entre 350 y $390^{\circ}C$, rango en el que se encuentran las temperaturas máximas de degradación de la quitina aislada en este estudio [5, 37, 67].

Las curvas termogravimétricas del quitosano al igual que la quitina, presentaron dos pérdidas de peso. La primera pérdida, oscila entre los 6,58% - 22,63% y es debida a la deshidratación del quitosano, la segunda pérdida es debida a su descomposición térmica. Los porcentajes de la segunda pérdida de masa

encontrados, son: $54,45 \pm 16,07$ % (abejas), $43,67 \pm 0,04$ % (avispas), $3,89 \pm 0,64$ (hormigas) y $41,27 \pm 0,48$ (termitas). Al realizar un análisis de varianza multifactorial a los resultados obtenidos, se encontró que los dos factores (especie y polímero) no tienen un efecto estadísticamente significativo ($p > 0,05$) sobre las pérdidas de masa (1 y 2), con un 95% de nivel de confianza.

Los valores de temperatura máxima de descomposición térmica del quitosano se encuentran alrededor de los $247,34 - 316,32^\circ\text{C}$, mientras que el DTG_{max} de la quitina oscilan entre $331,13 - 373,6^\circ\text{C}$, lo que significa, que la quitina es térmicamente más estable que el quitosano. Esta información es acorde a lo reportado en estudios anteriores [33, 37, 67] [67]. En la gráfica 24 se da el diagrama de caja y bigotes para las dos pérdidas de masa encontradas en las diferentes especies de insectos, presentándose mayor desviación estándar en la primera pérdida de peso para el quitosano de hormigas, mientras que en la segunda pérdida, la desviación es superior en el quitosano de abejas.

Figura 24. Diagrama de caja y bigotes para las pérdidas de peso A) pérdida 1, B) pérdida 2

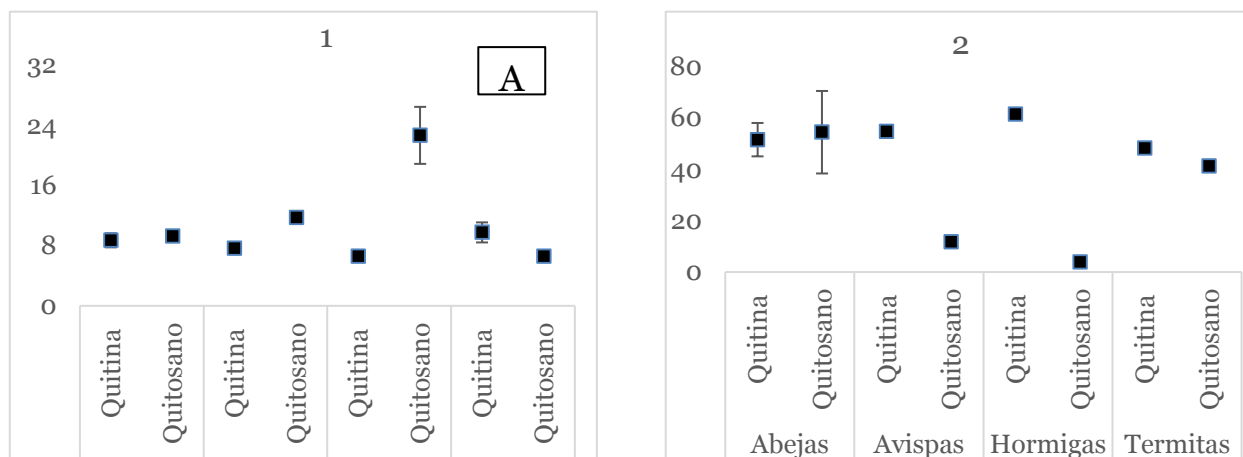


Tabla 7. Resultados DSC

Especies	Biopolímero	Temperatura 1 (°C)	Transición (J/g) Endotérmica	Temperatura 2 (°C)	Transición exotérmica (J/g)
Abejas	Quitina	73,97 ± 1,5274	176,35 ± 7,14	369,33 ± 1,69	142,90 ± 37,05
	Quitosano	64,11 ± 4,93	106,80 ± 7,72	299,65 ± 21,33	181,90 ± 0,14
Avispas	Quitina	82,97 ± 5,48	170,10 ± 20,22	379,45 ± 0,45	63,89 ± 15,02
	Quitosano	71,69 ± 5,56	253,50 ± 22,18	302,55 ± 0,72	182,73 ± 34,37
Hormigas	Quitina	58,23 ± 14,31	235,67 ± 8,56	395,25 ± 5,23	227,30 ± 27,74
	Quitosano	111,13 ± 3,43	1366,93 ± 271,41	248,34 ± 4,66	697,03 ± 123,95
Termitas	Quitina	77,65 ± 0,46	255,75 ± 129,89	381,58 ± 0,93	32,29 ± 35,06
	Quitosano	74,84 ± 2,87	159,75 ± 8,56	286,58 ± 1,8314	140,85 ± 20,72

Fuente: autor

Las curvas DSC se pueden observar en los anexos (figura 19-28). El primer evento térmico para la quitina, es debido a la pérdida de agua con una entalpia de 176,35 J/g (abejas) y 170,10 J/g (avispas). La segunda transición (exotérmica) se presenta alrededor de 369,33°C (abejas) y 379,45 °C (avispas) y corresponde a la descomposición del polímero, necesitando una energía térmica de 142,90 (abejas) y 63,89 J/g (avispas). Al realizar un análisis de varianza multifactorial a los resultados obtenidos, se encontró que los dos factores (especie y polímero) tienen un efecto estadísticamente significativo ($p < 0,05$) sobre la entalpia 1 y la entalpia 2, con un 95% de nivel de confianza

El quitosano, al igual que la quitina, presenta dos transiciones térmicas, una endotérmica y otra exotérmica. La transición endotérmica está asociada con los grupos hidrófilos del biopolímero y la transición exotérmica es debida a la degradación del quitosano. Los resultados obtenidos son satisfactorios de acuerdo a la publicado por Yen, *et al* (2009) y Kumari, *et al* (2015), en donde el pico exotérmico aparece en el intervalo de temperatura 250 - 350 °C y el endotérmico a los 79°C [33, 68]. Al ser un biopolímero, el quitosano necesita de una energía relativamente alta para la disociación de su estructura y cuanto mayor sea la entalpía de este pico, más densa será la cristalinidad del mismo; lo que indica, que el quitosano obtenido a partir de hormigas puede tener una estructura con mayor grado de cristalinidad que el obtenido a partir de las otras especies; sin embargo, para corroborar esta información se haría necesario llevar a cabo un análisis mediante difracción de rayos X (DRX).

4.4 ABSORCIÓN ATÓMICA

Como se mencionó en la metodología, para determinar el posible uso del quitosano obtenido, en la remoción de cromo hexavalente en muestras acuosas, se llevó a cabo una evaluación preliminar. En la tabla 3 se dan a conocer los valores de absorbancia obtenidos para las soluciones patrón que integran la curva de calibración (figura 24) y para los diferentes ensayos de remoción realizados. Las soluciones de dicromato de potasio, se diluyeron después del ensayo de remoción, tomando 10mL de las mismas y llevando con agua destilada a 50mL de solución, los diferentes valores de absorbancia reportados en la tabla 3 para las muestras, se refieren a esta solución de 50mL.

Tabla 8. Datos curva de calibración y lectura de ensayos de remoción

Solución	ppm	Absorbancia
Patrón 1	0,5	0,0267
Patrón 2	2	0,0146
Patrón 3	6	0,0343
Patrón 4	10	0,0555
Patrón 5	15	0,0778
Patrón 6	20	0,0954
Muestras		
Solución $K_2Cr_2O_7$		0,0572
		0,0580
		0,0588
Ensayo hormigas		0,0384
		0,0388
		0,0395
Ensayo termitas		0,0541
		0,0552
		0,0539
Ensayo avispas		0,0533
		0,0496
		0,0495
Ensayo abejas		0,0578
		0,0511
		0,0495

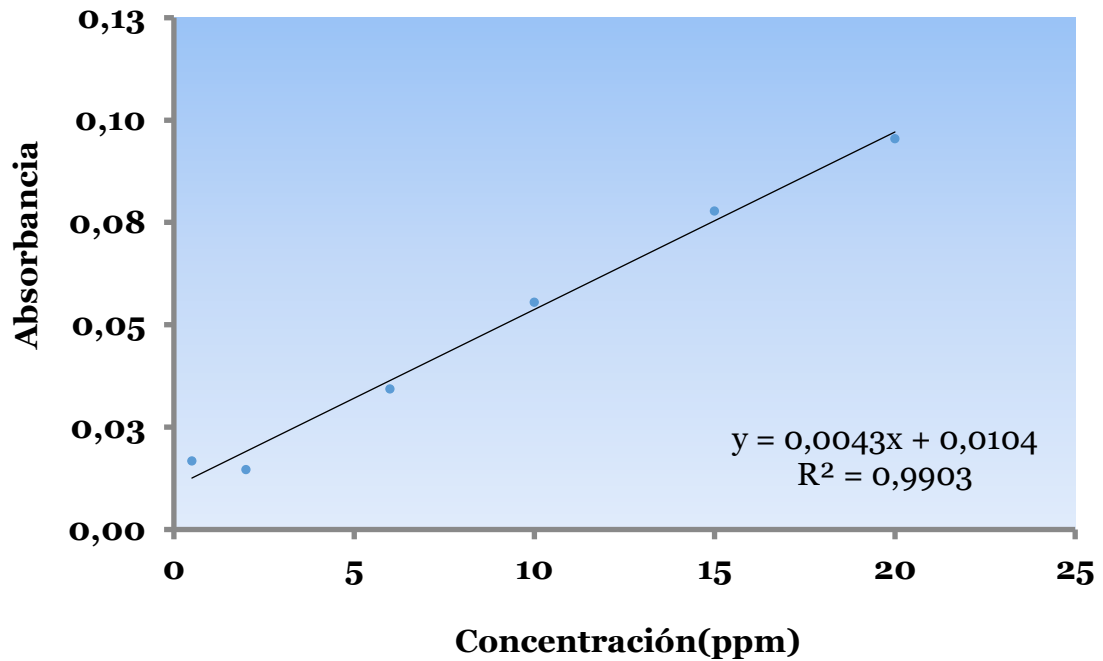
Fuente: autor

Tabla 9. Ensayos y concentración más o menos SD

Muestras	Concentración cromo (VI)
Ensayo Solución	55,35±0,93
Ensayo Hormigas	33,14±0,64
Ensayo Termitas	51,16±0,81
Ensayo Avispas	46,97±2,52
Ensayo Abejas	49,30±5,12

Fuente: autor

Figura 24. Curva de calibración



En la tabla 10 se reportan las concentraciones para los diferentes ensayos con sus respectivas desviaciones estándar. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para los diferentes resultados, encontrando que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los valores obtenidos para el quitosano de las diferentes especies, con un nivel de 95% de confianza.

Como se puede observar en la tabla 9, las 4 muestras redujeron la cantidad de cromo (VI) de la solución inicial; sin embargo, lo hacen en una proporción diferente, siendo una remoción del 40,13% debida al quitosano obtenido a partir de hormigas, 27,55% el de avispa, 21,34% el de abejas y 12,47% el de termitas, estos resultados corroboran el potencial uso de este biopolímero para la remoción del ion cromo (VI) en soluciones acuosas; sin embargo, esta reducción podría mejorar en cada caso, si se estudian sus condiciones óptimas y su cinética de remoción.

5. CONCLUSIONES

Todas las muestras de quitosano reducen la cantidad de cromo (VI) en una solución acuosa (~55ppm); sin embargo, lo hacen en una proporción diferente, siendo una remoción del 40,13% debida al quitosano obtenido a partir de hormigas, 27,55% el de abejas, 21,34% el de avispas y 12,47% el de termitas, lo cual corrobora su potencial uso para la remoción del ion cromo (VI) en soluciones acuosas, siendo el más adecuado el de hormigas (*Atta cephalotes*), que a su vez tiene mayor contenido de quitina (19,1772%).

El quitosano, al igual que la quitina, presenta dos transiciones térmicas, una endotérmica y otra exotérmica. La transición endotérmica está asociada con los grupos hidrófilos del biopolímero y la transición exotérmica es debida a la degradación del quitosano y la quitina, respectivamente.

Al ser un biopolímero, el quitosano necesita de una energía relativamente alta para la disociación de su estructura y cuanto mayor sea la entalpía de este pico, más densa será la cristalinidad del mismo; lo que indica, que el quitosano obtenido a partir de hormigas (697.03 J/g) puede tener una estructura con mayor grado de cristalinidad que el obtenido a partir de las otras especies (~180J/g); sin embargo, para corroborar esta información se haría necesario llevar a cabo un análisis mediante difracción de rayos X (DRX).

Los valores de temperatura máxima de descomposición térmica del quitosano se encuentran alrededor de los 247,34 - 316,32°C, mientras que el DTG_{max} de la quitina oscilan entre 331,13 - 373,6 °C, lo que significa, que la quitina es térmicamente más estable que el quitosano.

En análisis infrarrojo de quitina y quitosano, presenta las principales bandas características de estos biopolímeros, reportados en la literatura por diferentes autores, lo cual indica que el proceso de extracción y obtención de dichos biopolímeros a partir de las cuatro especies de insectos (*Apis Mellifera Africanizada*, *Polistes erythrocephalus*, *Atta cephalotes*, *Nasutiermes sp*), fue satisfactorio.

Los resultados obtenidos para las temperaturas máximas de degradación, son acorde a los publicados por otros autores. A pesar de que el método de extracción para quitina, fue el mismo para los cuatro insectos, su biopolímero resultante, no

presentó la misma estabilidad térmica, lo cual sugiere que las propiedades térmicas de la estructura de la quitina se relacionan con la especie de insectos de la que se haya extraído, pues al comparar las temperaturas máximas de degradación (DTG_{max}); se observó que este valor, fue mayor para la quitina obtenida de hormigas (373,60°C), seguida de avispas (367,73°C), termitas (355,49°C) y por último abejas (331,13°C).

En el análisis termogravimétrico, se pudo observar que tanto quitina como quitosano presentan dos pérdidas de masa, en el rango de 45,5833±2,2113 a 373,6±0,77 (quitina) y 47,69±7,49 a 316,32±3,94 (quitosano), estando la primera pérdida relacionada con la evaporación del agua y la segunda con la termodegradación de las moléculas.

Al realizar un análisis de varianza multifactorial a los resultados obtenidos, se encontró que los dos factores (especie y polímero) no tienen un efecto estadísticamente significativo ($p > 0,05$) sobre las pérdidas de masa (1 y 2), pero si las tienen sobre las entalpías (1 y 2), con un 95% de nivel de confianza

El contenido de humedad de los insectos es muy alto ya que supera el 50% de su peso inicial (en los 4 casos) y adicionalmente difiere entre especies ($p < 0,05$), al igual que el contenido de quitina ($p < 0,05$); el cual, es mayor en hormigas (*Atta cephalotes*) con un 19,18%, seguido de termitas (*Nasutitermes* sp) 12,42 % y abejas (*Apis Mellifera Africanizada*) 6,27 %, siendo el menor contenido el de las avispas (*Polistes erythrocephalus*) (5,487%).

RECOMENDACIONES

Para determinar el grado de cristalinidad de los polímeros de las cuatro especies de insectos encarga llevar a cabo un análisis mediante difracción de rayos X (DRX).

Realizar un análisis de microscopia de análisis de barrido (SEM) para reproducir imágenes de la superficie de la muestra e identificar si hay diferencias entre estas y determinar el peso molecular de los polímeros

Los quitosanos de las cuatro especies remueven cromo (VI) en diferente proporción, esta reducción podría mejorar en cada caso, si se estudian sus condiciones óptimas y su cinética de remoción.

El diseño de una planta piloto y evaluación de costo-beneficio de este proceso, utilizando el quitosano de hormigas que presenta mayor remoción.

BIBLIOGRAFÍA

1. Research, G.V. *Chitosan Market Analysis By Application (Water Treatment, Pharmaceutical & Biomedical, Cosmetics, Food & Beverage) And Segment Forecasts To 2022*. Available from: <http://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/global-chitosan-market>.
2. Research, T.M. *Global Chitosan Market Propelled by Rapid Increase in Water Treatment Applications, Poised to Reach US\$4.20 bn by 2020*. Available from: <http://www.transparencymarketresearch.com/pressrelease/chitosan-market.htm>.
3. Pájaro, Y. and F. Diaz, *Remoción de cromo hexavalente de aguas contaminadas usando quitosano obtenido de exoesqueleto de camarón*. Revista Colombiana de Química, 2012. **41**(2): p. 283-298.
4. Barrenechea Martel, A., V. Maldonado Yactayo, and M. Aurazo de Zumaeta, *Aspectos fisicoquímicos de la calidad del agua*, in *Tratamiento de agua para consumo humano. Plantas de filtración rápida. Manual I: teoría. Tomo I*. 2004, CEPIS. p. 2-56.
5. Kaya, M., et al., *First chitin extraction from Plumatella repens (Bryozoa) with comparison to chitins of insect and fungal origin*. International Journal of Biological Macromolecules, 2015. **79**: p. 126-132.
6. Kaya, M., et al., *Comparison of bovine serum albumin adsorption capacities of α -chitin isolated from an insect and β -chitin from cuttlebone*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2016. **38**: p. 146-156.
7. Kaya, M., I. Sargin, and D. Erdonmez, *Microbial biofilm activity and physicochemical characterization of biodegradable and edible cups obtained from abdominal exoskeleton of an insect*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2016. **36**: p. 68-74.
8. Panagiotakopulu, E., et al., *AMS dating of insect chitin – A discussion of new dates, problems and potential*. Quaternary Geochronology, 2015. **27**: p. 22-32.
9. Nemtsev, S., et al., *Bees as Potential Source of Chitosan*. 2001.
10. Erdogan, S. and M. Kaya, *High similarity in physicochemical properties of chitin and chitosan from nymphs and adults of a grasshopper*. International Journal of Biological Macromolecules, 2016. **89**: p. 118-126.
11. Kaya, M., et al., *Changes in physicochemical properties of chitin at developmental stages (larvae, pupa and adult) of Vespa crabro (wasp)*. Carbohydrate Polymers, 2016. **145**: p. 64-70.
12. Kaya, M., et al., *Fluctuation in physicochemical properties of chitins extracted from different body parts of honeybee*. Carbohydrate Polymers, 2015. **132**: p. 9-16.
13. Kaya, M., et al., *Surface morphology of chitin highly related with the isolated body part of butterfly (Argynnis pandora)*. International Journal of Biological Macromolecules, 2015. **81**: p. 443-449.
14. Melo, V. and O. Cuamatzi, *Bioquímica de los procesos metabólicos*. 2007: Reverte.
15. Sagheer, F.A.A., et al., *Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf*. Carbohydrate Polymers, 2009. **77**(2): p. 410-419.
16. Usman, A., et al., *Chitin and chitosan based polyurethanes: A review of recent advances and prospective biomedical applications*. International Journal of Biological Macromolecules, 2016. **86**: p. 630-645.
17. Seymour, R.B. and C.E. Carraher, *Introducción a la química de los polímeros*. 1995: Reverté.
18. Sánchez, L.M.D., *Nuevo método para la obtención de quitina*. Ciencia y Tecnología, 2007. **25**(1-2): p. 35-41.

19. Gonil, P. and W. Sajomsang, *Applications of magnetic resonance spectroscopy to chitin from insect cuticles*. International Journal of Biological Macromolecules, 2012. **51**(4): p. 514-522.
20. Wan, A.C.A. and B.C.U. Tai, *CHITIN — A promising biomaterial for tissue engineering and stem cell technologies*. Biotechnology Advances, 2013. **31**(8): p. 1776-1785.
21. Pacheco, N., *Extracción biotecnológica de quitina para la producción de quitosanos: caracterización y aplicación*. México DF: Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa, 2010.
22. Jayakumar, R., et al., *Novel carboxymethyl derivatives of chitin and chitosan materials and their biomedical applications*. Progress in Materials Science, 2010. **55**(7): p. 675-709.
23. Hamed, I., F. Özogul, and J.M. Regenstein, *Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review*. Trends in Food Science & Technology, 2016. **48**: p. 40-50.
24. Velásquez, C.L., *Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica*. Revista UDO Agrícola, 2008. **8**(1): p. 1-22.
25. Bautista-Baños, S., et al., *Quitosano: una alternativa natural para reducir microorganismos postcosecha y mantener la vida de anaquel de productos hortofrutícolas*. Revista Iberoamericana de tecnología postcosecha, 2005. **7**(1): p. 1-6.
26. Chandran, R., et al., *SEM characterization of anatomical variation in chitin organization in insect and arthropod cuticles*. Micron, 2016. **82**: p. 74-85.
27. Barros, I., L. Guzmán, and A. Tarón, *EXTRACCIÓN Y COMPARACIÓN DE LA QUITINA OBTENIDA A PARTIR DEL CAPARAZÓN DE Callinectes sapidus Y Penaeus vannameis*. Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica, 2015. **18**(1): p. 227-234.
28. Fernando, L.A.T., et al., *Chitin Extraction and Synthesis of Chitin-Based Polymer Films from Philippine Blue Swimming Crab (Portunus pelagicus) Shells*. Procedia Chemistry, 2016. **19**: p. 462-468.
29. Mohammed, M.H., P.A. Williams, and O. Tverezovskaya, *Extraction of chitin from prawn shells and conversion to low molecular mass chitosan*. Food Hydrocolloids, 2013. **31**(2): p. 166-171.
30. Cuong, H.N., et al., *Preparation and characterization of high purity β -chitin from squid pens (Loligo chensis)*. International Journal of Biological Macromolecules, 2016. **93**, Part A: p. 442-447.
31. Greven, H., M. Kaya, and T. Baran, *The presence of α -chitin in Tardigrada with comments on chitin in the Ecdysozoa*. Zoologischer Anzeiger - A Journal of Comparative Zoology, 2016. **264**: p. 11-16.
32. Arbia, W., et al., *Optimization of medium composition for enhanced chitin extraction from Parapenaeus longirostris by Lactobacillus helveticus using response surface methodology*. Food Hydrocolloids, 2013. **31**(2): p. 392-403.
33. Kumari, S., et al., *Extraction and characterization of chitin and chitosan from fishery waste by chemical method*. Environmental Technology & Innovation, 2015. **3**: p. 77-85.
34. Sayari, N., et al., *Chitin and chitosan from the Norway lobster by-products: Antimicrobial and anti-proliferative activities*. International Journal of Biological Macromolecules, 2016. **87**: p. 163-171.
35. Kaya, M., et al., *Comparison of chitin structures isolated from seven Orthoptera species*. International Journal of Biological Macromolecules, 2015. **72**: p. 797-805.

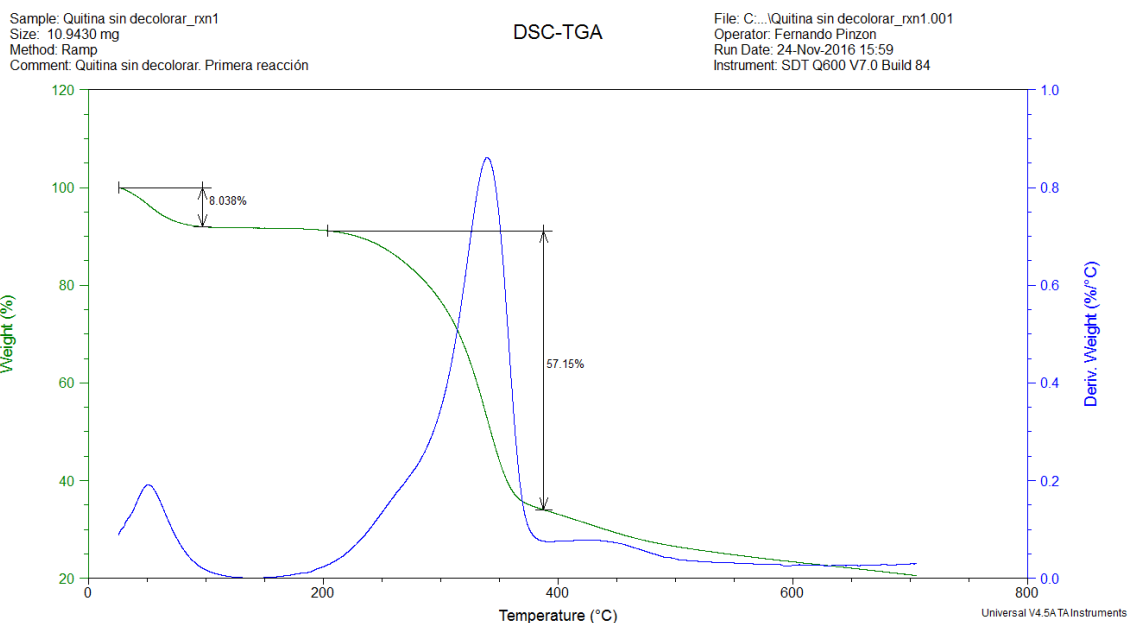
36. Kaya, M. and T. Baran, *Description of a new surface morphology for chitin extracted from wings of cockroach (Periplaneta americana)*. International Journal of Biological Macromolecules, 2015. **75**: p. 7-12.
37. Sierra, D.M.E., C.P.O. Orozco, and W.A. Ospina, *Optimización de un protocolo de extracción de quitina y quitosano desde caparazones de crustáceos*. Scientia et Technica, 2013. **18**(1): p. 260-266.
38. Peña, L.E., *Introducción a los insectos de Chile*. 1996: Editorial Universitaria.
39. Muthukrishnan, S., et al., *7 - Chitin Metabolism in Insects A2 - Gilbert, Lawrence I*, in *Insect Molecular Biology and Biochemistry*. 2012, Academic Press: San Diego. p. 193-235.
40. Carbonell, K.J. and J.E. Lattke, *El mundo de las hormigas*. 2004: Equinoccio.
41. singoli, V., *La gran enciclopedia de los animales*. Script ed. 2012.
42. Mendizabal, F.M., *Abejas*. 2005: Editorial Albatros.
43. Sánchez, O., et al., *Aportes para el análisis del sector apícola Colombiano*. Journal of Agricultural science and Technology, 2013. **2**(4): p. 469-483.
44. Montés, F.J., *El universo de los insectos*. 2013: Mundi-Prensa Libros.
45. Vargas-Niño¹, A.P., et al., *Lista de los géneros de Termitidae (Insecta: Isoptera) de Colombia*. Biota Colombiana, 2005. **6**(2): p. 181-190.
46. Liotta, G., *Los insectos y sus daños en la madera: problemas de restauración*. Vol. 4. 2000: Editorial Nerea.
47. Méndez, J.P., et al., *CONTAMINACIÓN Y FITOTOXICIDAD EN PLANTAS POR METALES PESADOS PROVENIENTES DE SUELOS Y AGUA [PLANT CONTAMINATION AND PHYTOXICITY DUE TO HEAVY METALS FROM SOIL AND WATER]*. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 2009. **10**(1): p. 29-44.
48. Cañizares-Villanueva, R.O., *Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana*. REVISTA LATINOAMERICANA DE MICROBIOLOGIA-MEXICO-, 2000. **42**(3): p. 131-143.
49. Skoog, D.A., D.M. West, and F.J. Holler, *Fundamentos de química analítica*. Vol. 2. 1997: Reverté.
50. Sohbatzadeh, H., et al., *U(VI) biosorption by bi-functionalized Pseudomonas putida @ chitosan bead: Modeling and optimization using RSM*. International Journal of Biological Macromolecules, 2016. **89**: p. 647-658.
51. Zhou, W., et al., *Biosorption of copper(II) and cadmium(II) by a novel exopolysaccharide secreted from deep-sea mesophilic bacterium*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2009. **72**(2): p. 295-302.
52. Saravanan, D., T. Gomathi, and P.N. Sudha, *Sorption studies on heavy metal removal using chitin/bentonite biocomposite*. International Journal of Biological Macromolecules, 2013. **53**: p. 67-71.
53. Authors: Höhne, G., Hemminger, Wolfgang F., Flammersheim, H.-J., *Differential Scanning Calorimetry*. 2 ed ed. 2003.
54. Brugnerotto, J., et al., *An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization*. Polymer, 2001. **42**(8): p. 3569-3580.
55. Kasaai, M.R., *A review of several reported procedures to determine the degree of N-acetylation for chitin and chitosan using infrared spectroscopy*. Carbohydrate Polymers, 2008. **71**(4): p. 497-508.
56. CARDENAS, G. and S.P. MIRANDA, *FTIR AND TGA STUDIES OF CHITOSAN COMPOSITE FILMS*. Journal of the Chilean Chemical Society, 2004. **49**: p. 291-295.

57. Pickering, W.F., *Química analítica moderna*. 1980: Reverté.
58. Ruiz, S.G., M.I.S. Alonso, and D.P. Quintanilla, *Análisis Instrumental*. Vol. 1. 2009: Netbiblo.
59. Skoog, D.A., F.J. Holler, and T.A. Nieman, *Principios de análisis instrumental*. Ed. McGraw Hill, 5ta Edición, 2001, ISBN, 1998. **217660172**.
60. Sienko, M.J., *Problemas de química*. 1996: Reverté.
61. Navarrete, N.M., *Termodinámica y cinética de sistemas : alimento entorno*. Vol. Editorial Universitat Politècnica de València. 1998. 372
62. Walton, H.F. and J. Reyes, *Análisis químico e instrumental moderno*. 1983: Reverté.
63. *Google Maps*. 2016

Available from: <https://www.google.es/maps/place/Colombia/@-1.3978682,-73.1805693,5z/data=!4m5!3m4!1s0x8e15a43aae1594a3:0x9a0d9a04eff2a340!8m2!3d4.570868!4d-74.297333>.

64. Baran, A., et al., *Comparative studies on the adsorption of Cr(VI) ions on to various sorbents*. *Bioresource Technology*, 2007. **98**(3): p. 661-665.
65. Kaya, M., et al., *Chitosan nanofiber production from Drosophila by electrospinning*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016. **92**: p. 49-55.
66. Paulino, A.T., et al., *Characterization of chitosan and chitin produced from silkworm crysalides*. *Carbohydrate Polymers*, 2006. **64**(1): p. 98-103.
67. Abdou, E.S., K.S. Nagy, and M.Z. Elsabee, *Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources*. *Bioresource Technology*, 2008. **99**(5): p. 1359-1367.
68. Yen, M.-T., J.-H. Yang, and J.-L. Mau, *Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells*. *Carbohydrate Polymers*, 2009. **75**(1): p. 15-21.

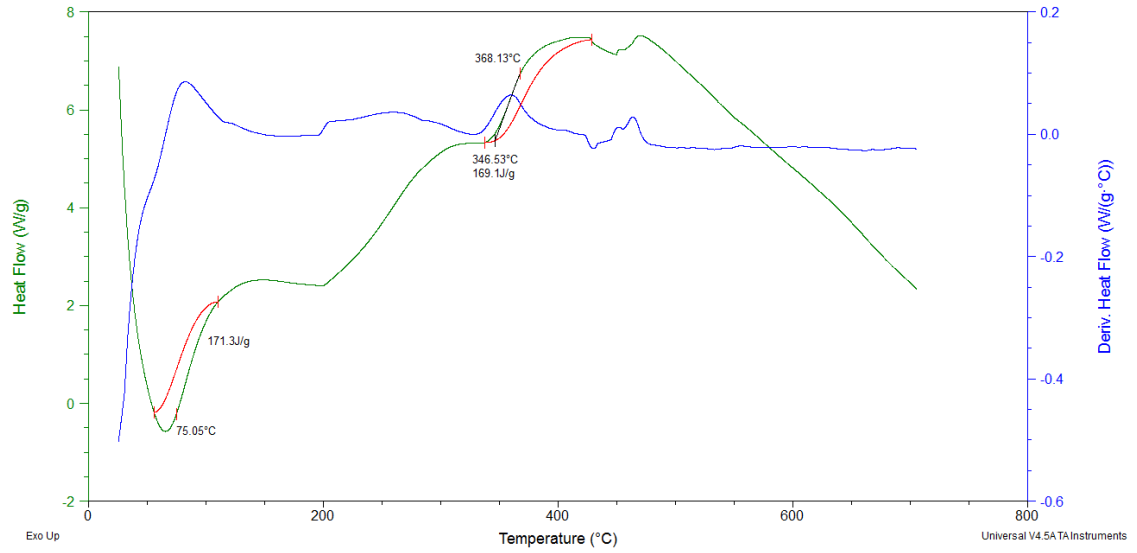
ANEXOS



Sample: Quitina sin decolorar_rxn1
Size: 10.9430 mg
Method: Ramp
Comment: Quitina sin decolorar. Primera reacci3n

DSC-TGA

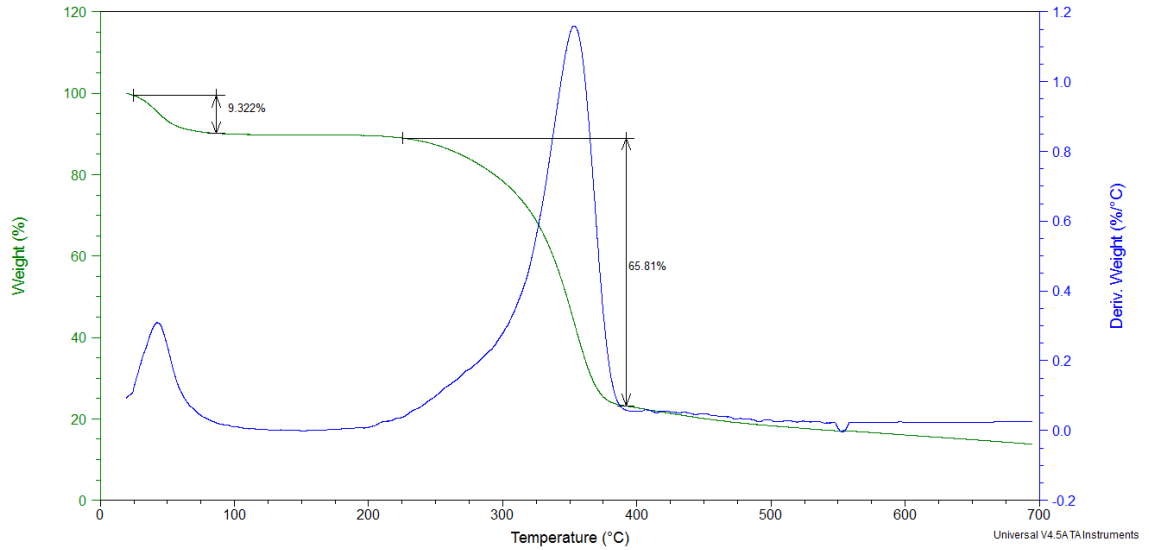
File: C:\...Quitina sin decolorar_rxn1.001
Operator: Fernando Pinzon
Run Date: 24-Nov-2016 15:59
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84



Sample: Quitosano Apis 1
Size: 3.7350 mg
Method: Ramp
Comment: Quitosano Apis 1

DSC-TGA

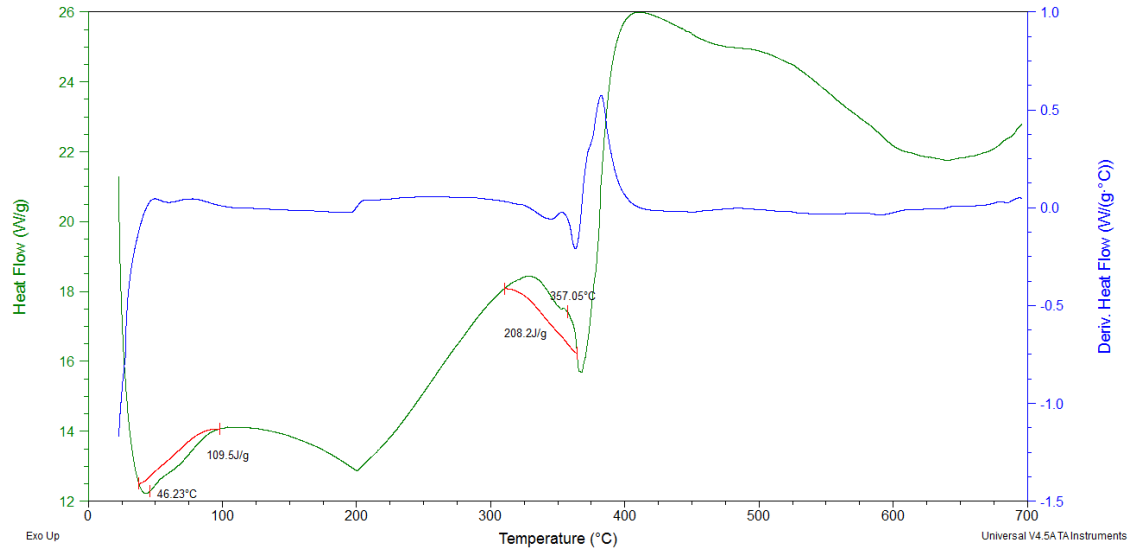
File: C:\...Abejas\Qitosano Apis 1.001
Operator: Alexandra torres
Run Date: 14-Oct-2016 08:30
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84



Sample: Quitosano Apis 1_2
Size: 4.2230 mg
Method: Ramp
Comment: Quitosano Apis 1_2

DSC-TGA

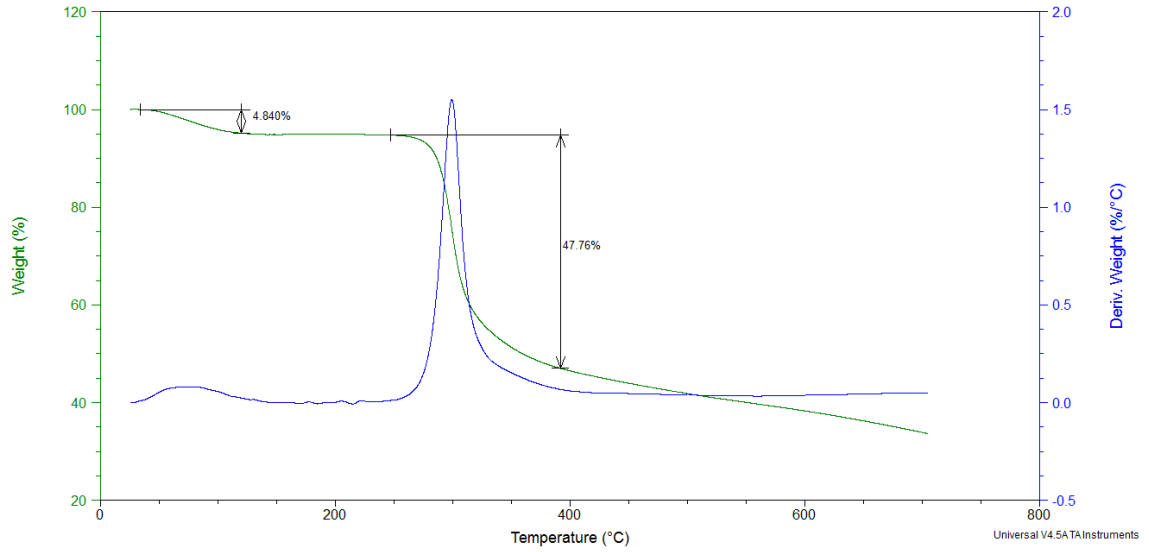
File: C:\...Abejas\Qitosano Apis 1_2.001
Operator: Alexandra torres
Run Date: 14-Oct-2016 14:21
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84



Sample: Quitosano Avispas_2
Size: 8.3120 mg
Method: Ramp
Comment: Quitosano Avispas. Duplicado

DSC-TGA

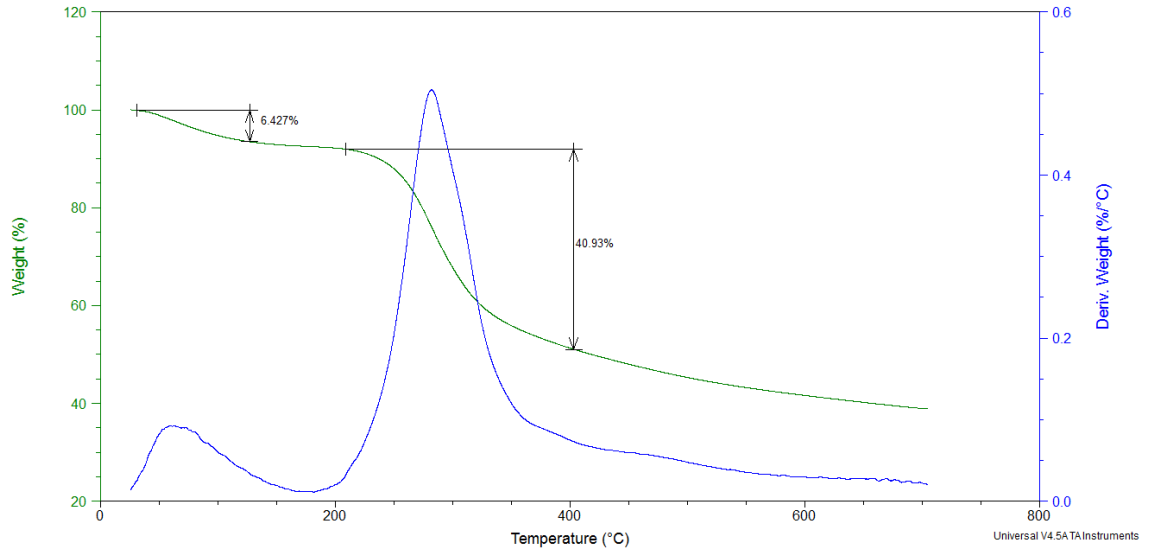
File: C:\...Avispas\Qitosano Avispas_2.001
Operator: Fernando Pinzon
Run Date: 24-Nov-2016 11:47
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84



Sample: Quitosano Termitas
Size: 11.2350 mg
Method: Ramp
Comment: Quitosano Termitas

DSC-TGA

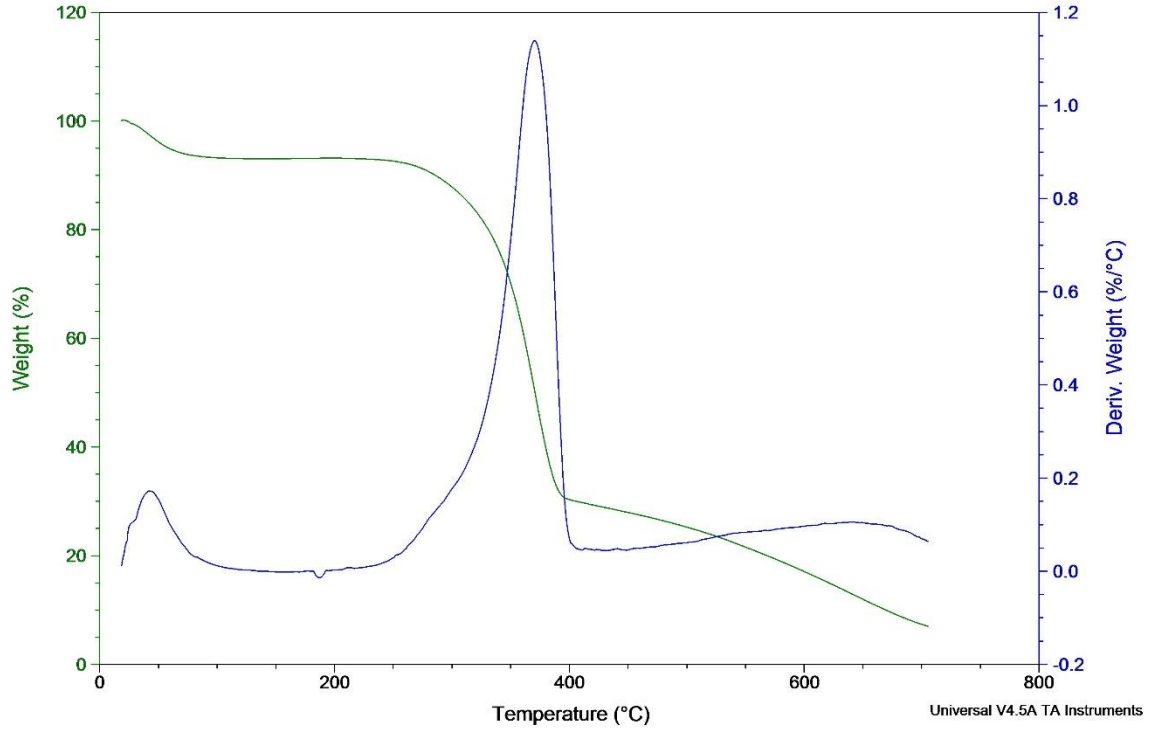
File: C:\Termitas\Quitosano Termitas.001
Operator: Fernando Pinzon
Run Date: 28-Nov-2016 13:09
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84



Sample: Quitina decolorada Hormigas V M
Size: 3.7200 mg
Method: Ramp
Comment: Quitina decolorada Hormigas Villa Marina

DSC-TGA

File: C:\...\Quitina Decolorada H V M.001
Operator: Fernando Pinzon
Run Date: 22-Nov-2016 08:29
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84



Sample: Quitosano Avispas_2
Size: 8.3120 mg
Method: Ramp
Comment: Quitosano Avispas. Duplicado

DSC-TGA

File: C:\...Avispas\Qitosano Avispas_2.001
Operator: Fernando Pinzon
Run Date: 24-Nov-2016 11:47
Instrument: SDT Q600 V7.0 Build 84

