

# EXTRACCIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO DEL MICELIO DE *ASPERGILLUS NIGER* Y SUS APLICACIONES COMO MATERIAL BIOADSORBENTE EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS

**Danny Balanta, Carlos David Grande, Fabio Zuluaga**

Departamento de Química, Universidad del Valle, Cali, Colombia.  
Correo electrónico: [fazulu@univalle.edu.co](mailto:fazulu@univalle.edu.co)

*Recibido: Diciembre de 2009; Aceptado: Marzo 2010*

## RESUMEN

Se realizó la extracción de quitina a partir del micelio de *Aspergillus niger*. El polímero se caracterizó mediante espectroscopia de infrarrojo, resonancia magnética nuclear y análisis elemental. El peso molecular promedio viscoso ( $M_v$ ) es del orden de  $10^5$  g/mol, y el grado de desacetilación se determinó para dos muestras por análisis elemental y valoración potenciométrica, obteniéndose valores de 79,78 y 80,68%, respectivamente. El quitosano obtenido se empleó para evaluar la floculación y la coagulación de materia orgánica de muestras de agua del río *Meléndez*, con buenos resultados como ayudante de floculación, debido a que la dosis óptima del coagulante primario puede ser reducida hasta en un 50% sin afectar el resultado de la floculación del coagulante primario de manera considerable. La aplicación del quitosano como adsorbente de iones metálicos como cobre, plomo y níquel se evaluó por medio de isotermas de adsorción. De los modelos cinéticos estudiados y con base en las condiciones de trabajo establecidas, se pudo constatar que para el cobre y el plomo, las isotermas a seguir son de tipo I y el modelo cinético que se ajusta es el de *Langmuir*, indicando adsorción de tipo químico en monocapa, mientras que para el níquel se determinó que el modelo que más se ajusta es el de *Freudlinch* debido a que presenta isotermas de tipo II (adsorción química en monocapa y física sobre varias capas).

**Palabras clave:** Quitosano, tratamiento de aguas, isotermas de adsorción, *Aspergillus niger*.

## ABSTRACT

The extraction of Chitin was carried out from *Aspergillus niger* mycelium. This polymer was characterized by elemental analysis, *Fourier* Transformed Infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance and viscometric molar mass determination ( $M_v$ ). The deacetylation degree was determined for two different samples by elemental analysis and potentiometric titration, obtaining 79.78 and 80.68%, respectively. Chitosan obtained from the deacetylation process was employed to run flocculation and coagulation tests with samples from water of the *Melendez* river. The flocculation was successful allowing reduction of the amount of the primary coagulant (Ferric chloride) up to 50% without any significant change. Retention of metallic ions such as copper, nickel and lead by chitosan was evaluated by adsorption isotherm plots. It was found from kinetic studies that copper and lead follow the *Langmuir* type isotherm, and Nickel follows a *Freudlinch* type isotherm.

**Keywords:** Chitosan, water treatment, adsorption isotherms, *Aspergillus niger*.

## 1. INTRODUCCIÓN

El agua es el líquido primordial e indispensable para todos los seres vivos (plantas, animales y seres humanos), sin embargo, mil millones de personas no tienen acceso al agua potable, ya que normalmente se contamina por el uso cotidiano, la presencia de biosólidos, componentes inorgánicos (metales pesados) provenientes de los desechos de muchas industrias y componentes biológicos (bacterias, microorganismos), o en su defecto no presenta tratamiento alguno [1].

Buscando una solución al problema de contaminación del agua, se han empleado diversos agentes coagulantes, como sales metálicas hidrolizables (cloruro férrico, sulfato de aluminio, policloruro de aluminio) y polímeros con cargas definidas a través de su estructura o polielectrolitos. El propósito de los compuestos mencionados es el de reducir los niveles de contaminación en el agua durante su tratamiento. Los polielectrolitos se destacan por ser una alternativa ambientalmente amigable a diferencia de los agentes coagulantes empleados actualmente en el tratamiento de aguas, debido a que presentan propiedades interesantes como una alta solubilidad en agua, capacidad de regeneración y reutilización, adsorción, biodegradación, resistencia y fuerza mecánica [1].

La quitina (poli- $\beta$ -(1,4)-N-acetil-D-glucosamina), segundo polisacárido natural más abundante después de la celulosa, es uno de los componentes principales de las paredes celulares de los hongos, y del exoesqueleto de crustáceos e insectos, altamente insoluble en agua y solventes orgánicos, lo cual restringe sus aplicaciones. Sin embargo, por desacetilación se transforma en quitosano (poli- $\beta$ -(1,4)-D-glucosamina-N-acetil-D-glucosamina), un compuesto que exhibe características fisicoquímicas de notable interés (elevada proporción de grupos amino libres, mayor solubilidad comparada con la quitina, biocompatibilidad y biodegradabilidad), lo cual hace que presente múltiples aplicaciones en medicina, industria cosmética, agricultura, biotecnología, industria alimentaria, industria papelera, y en el tratamiento de aguas y efluentes residuales e industriales, debido a su facilidad de conversión a polielectrolito [2].

Tradicionalmente, la fuente primaria de quitosano ha sido la quitina, que a su vez proviene del material residual de la industria pesquera (exoesqueletos de camarón), sin embargo la extracción del polímero se ve limitada, debido a la escasez del material residual en ciertas temporadas del año o tiempos de veda, por esta razón, se utilizan fuentes de partida no convencionales como los hongos. El micelio de varias especies de hongos, como en el caso de *Mucor rouxii* [3], *Absidia coerulea*, *Rhizopus orizae* [4], y *Aspergillus niger* [5,6] ha sido empleado como fuente alternativa para la obtención de quitosano.

El objetivo principal de esta investigación es presentar el método de extracción química de quitosano a partir del micelio de *Aspergillus niger*, y evaluar su uso como bioadsorbente en la remoción de iones de metales pesados y de contaminantes presentes en agua contaminada proveniente del río Meléndez.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

**2.1. Materiales y reactivos.** Los reactivos fueron suministrados por las empresas *Merck*, *Carlo Erba*, *EM Science* y *Mallinckrodt*, siendo de alta pureza, el micelio de *Aspergillus niger* fue

suministrado por la empresa *Sucromiles S.A.* La muestra de agua natural del río *Meléndez* fue tomada aleatoriamente en puntos de alta contaminación por desechos y materia orgánica.

## 2.2. Metodología.

**2.2.1. Purificación y obtención de quitosano desde el micelio de *Aspergillus Niger*.** El micelio de *Aspergillus niger* (140 g) fue lavado para eliminar las impurezas procedentes de la industria del ácido cítrico, se transfirió a un balón de fondo redondo de 1 L provisto de una barra magnética para agitación y posteriormente se adicionó NaOH al 40% (500 mL). La reacción se calentó hasta ebullición durante 5 horas. Al terminar la reacción se obtuvo una pasta de color café (alrededor de 100 g), que se vierte a un erlenmeyer de 4 L. Se procedió a eliminar todo exceso de NaOH, lavando la pasta resultante con abundante agua caliente, hasta que quedara de color crema, luego se midió el pH de la pasta hasta que fue cercano a la neutralidad. La pasta color crema (alrededor de 90 g) se mezcló con CH<sub>3</sub>COOH al 10% (500 mL) en un vaso de 4 L provisto de una barra magnética, se somete a agitación durante 3 horas y se midió el pH de la pasta, el cual debe oscilar entre 3,8-4,5, luego se procedió a verter la mezcla resultante en frascos de plástico, estos se llevan a centrifugación, a una velocidad entre 4.500-6.000 rpm durante 10-15 minutos. Los sobrenadantes de cada frasco se reunieron en erlenmeyers de 1 L. La operación de extracción se repitió dos veces más adicionando ácido acético al 10% y los tres extractos se reunieron en un mismo recipiente.

Finalmente el polímero precipita adicionando NaOH al 40% hasta que el pH sea de 10,0 y posteriormente el sistema se dejó en reposo para una completa sedimentación. El quitosano se recuperó por centrifugación y por filtración, se lavó con agua, etanol y se secó en un horno al vacío a 40°C, obteniéndose 1,5 g del polímero, equivalente a un rendimiento del 1,07%.

**2.2.2. Caracterización.** Se tomaron muestras de quitosano y se confirmó su estructura por espectroscopia de infrarrojo empleando un espectrofotómetro *Shimadzu FTIR Affinity* y por resonancia magnética nuclear, empleando un equipo marca *Bruker Avance II 400 MHz*, la composición porcentual del quitosano se obtuvo del analizador elemental *Thermo Electron FlashEA 1112 Series*.

El peso molecular del polímero se determinó por viscosimetría capilar, siguiendo la norma ASTM D446 [7], empleando un viscosímetro tipo *Ubbelholde 0B-NO 206*, sumergido en un baño termostático a 25°C, el cual fue inicialmente calibrado con agua. Las muestras de quitosano fueron preparadas a partir de una solución madre del polímero de concentración 0,02 g/mL (previamente disuelta en CH<sub>3</sub>COOH 0,1M). Las soluciones resultantes de quitosano se prepararon por dilución, siendo de concentraciones 0,003, 0,005, 0,007, 0,009 y 0,01 g/mL.

El grado de desacetilación se determinó por dos métodos: mediante valoración

potenciométrica, empleando 0,5 g de quitosano disueltos en 20 mL de HCl 0,3 M, NaOH 0,1 M como titulante y un pH-metro *Schott Gerate* CG820 para registrar el pH tras la adición de cada mL de base [8] y mediante análisis elemental, tomando la relación de los porcentajes de carbono y nitrógeno (C/N) del polímero [9].

**2.2.3. Adsorción de cobre, níquel y plomo sobre quitosano.** Se prepararon soluciones madre (1000 ppm) de cobre, plomo y níquel a partir de las sales  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{NiCl}_2$  y  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  respectivamente, de ellas se prepararon soluciones de concentraciones 1, 2, 3, 4 y 5 ppm. Las soluciones de 1-5 ppm de Cu, Ni y Pb se dividieron en dos partes: 10 mL se destinaron para medición directa en el equipo de absorción atómica (*Perkin Elmer AAnalyst 200*), y los 10 mL restantes de cada solución de metales se vertieron en erlenmeyers de 50 mL provistos de barras magnéticas para agitación, seguidamente se les adicionó 10 mg de quitosano y 1 mL de HCl al 5% para llevar el pH a 4,0, finalmente se suspendieron en agitación a 250 rpm durante tres horas. Pasado este tiempo, se filtró cada una de las soluciones de metales a las cuales se les adicionó quitosano y estas se llevaron al equipo de absorción atómica para ser analizadas [10, 11,12]

**2.2.4. Test de Jarras en muestras de agua del río Meléndez.** Para la determinación de la dosis óptima de  $\text{FeCl}_3$  se prepararon soluciones madre de cloruro férrico anhidro 1000 ppm, de Quitosano 100 ppm (disuelto en HCl al 5%) y de ftalato ácido de potasio 1000 ppm en balones aforados. Estas soluciones se mantuvieron refrigeradas por un máximo de 6 días al igual que la muestra de agua cruda a tratar, tomada del río *Meléndez*.

Se prepararon siete agitadores (*Corning Stirrer 200*) y sobre cada uno de ellos se tenían vasos de capacidad de 250 mL, a los cuales se les adicionaron barras magnéticas. En cada vaso se adicionaron 200 mL de agua cruda, la velocidad inicial de agitación para todos los vasos fue de 360 rpm durante 15 minutos con el fin de estabilizar la agitación en los siete vasos; tras este tiempo, se adicionaron simultáneamente y durante un minuto dosis crecientes de cloruro férrico en concentraciones 12, 14, 16, 18, 20 y 22 ppm (coagulación). Pasado un minuto, la velocidad de agitación disminuyó hasta 60 rpm durante 20 minutos (floculación), seguidamente la agitación lenta cesó y la sedimentación de los sólidos se dio durante 30 minutos (sedimentación). Finalmente, de cada vaso se tomaron alícuotas de 50 mL, a 4 cm por debajo del tope de la solución [13,14]. Los parámetros analizados en cada muestra de agua fueron: Turbidez (medida en un turbidímetro *Hach* 2100N), pH (medición realizada en pH-metro *Schott Gerate* CG820), Materia orgánica natural (medición de la absorbancia a longitud de onda 256 nm en espectrofotómetro UV visible *Shimadzu* UV-1700) y carbono orgánico total (determinado mediante analizador de TOC *Shimadzu* ASI-V-CPH).

Al investigar el quitosano como ayudante de coagulación (adición previa a la adición del

coagulante primario) y de floculación (adición ulterior al coagulante primario) se siguió el procedimiento anterior, empleando la dosis óptima de  $\text{FeCl}_3$  con soluciones de quitosano de concentraciones 0,1, 1, 2, 5, 7 y 10 ppm.

Si es empleado como ayudante de coagulación, las soluciones del polímero se adicionaron inicialmente a los vasos, y después se adicionaron la dosis óptima de  $\text{FeCl}_3$  y en caso de ser ayudante de floculación, las dosis de polímero se adicionaron después de la dosis óptima de  $\text{FeCl}_3$ .

Del mismo modo que en las pruebas anteriores, se evaluó la posibilidad de reducir la dosis óptima de  $\text{FeCl}_3$  en un 10, 20, 30, 40 y 50% para analizar el efecto sobre la coagulación de las impurezas presentes en agua, utilizando la dosis óptima de quitosano como ayudante de coagulación y de floculación.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Extracción de quitosano.

**3.1.1. Ruptura de las paredes celulares, desproteínización y desacetilación.** Los *componentes de* la pared celular (azúcares y la quitina unida a glucanos y proteínas) se liberan, debido al medio fuertemente alcalino y a la alta temperatura de la reacción. Las proteínas sufren desnaturalización (ocurre la destrucción de sus enlaces, por lo cual se pierden estructuras regulares como las hélices  $\alpha$  y  $\beta$ , haciendo que la actividad biológica se pierda, quedando una larga cadena polipeptídica libre). En el caso de los azúcares, estos se degradan ante el calor, siendo fácilmente retirados durante los lavados con agua caliente.

En la pared celular, la quitina está unida fuertemente al complejo quitino-glucano en una relación 30:70 y la separación de la quitina ocurre cuando se da una hidrólisis básica en el C-3 de la fracción glucana, rompiendo el enlace *O*-glucosídico  $\alpha$ -1,3 que une al glucano con la quitina. Finalmente, la quitina sufre una hidrólisis básica en el grupo acetamido, liberando el quitosano [15].

**3.1.2. Recuperación del quitosano.** Con la adición de ácido acético se separa el polímero de la pasta hasta alcanzar un pH entre 3,8 y 4,5, ya que los grupos amino del quitosano se cargan positivamente, por lo que este se convierte en polielectrolito mejorando su solubilidad en agua. La fracción soluble se separa de la pasta por centrifugación y finalmente el polímero precipita con la adición de NaOH al 40% hasta alcanzar un pH entre 9,6-10,0.

#### 3.2. Caracterización química.

**3.2.1. Análisis por espectroscopia infrarroja y resonancia magnética nuclear.** El espectro FTIR del quitosano (véase la Figura 1a) muestra una banda debida al estiramiento  $-\text{OH}$  a  $3.414 \text{ cm}^{-1}$ , el grupo  $-\text{NH}_2$  aparece a  $3.215 \text{ cm}^{-1}$ , a  $2.926 \text{ cm}^{-1}$  se evidencia el estiramiento C-H, a  $1.664 \text{ cm}^{-1}$  aparece la vibración de tensión del C=O, a  $1.574 \text{ cm}^{-1}$  se ve la frecuencia de torsión -

NH<sub>2</sub>, a 1.423 cm<sup>-1</sup> la torsión -CH<sub>2</sub>-, a 1.316 cm<sup>-1</sup> la vibración de tensión C-N, el estiramiento simétrico C-O aparece a 1.074 cm<sup>-1</sup>, y el estiramiento C-O-C glucosídico se ve a las frecuencias 894, 705 y 556 cm<sup>-1</sup>. El espectro obtenido puede verse en la Figura 1a.

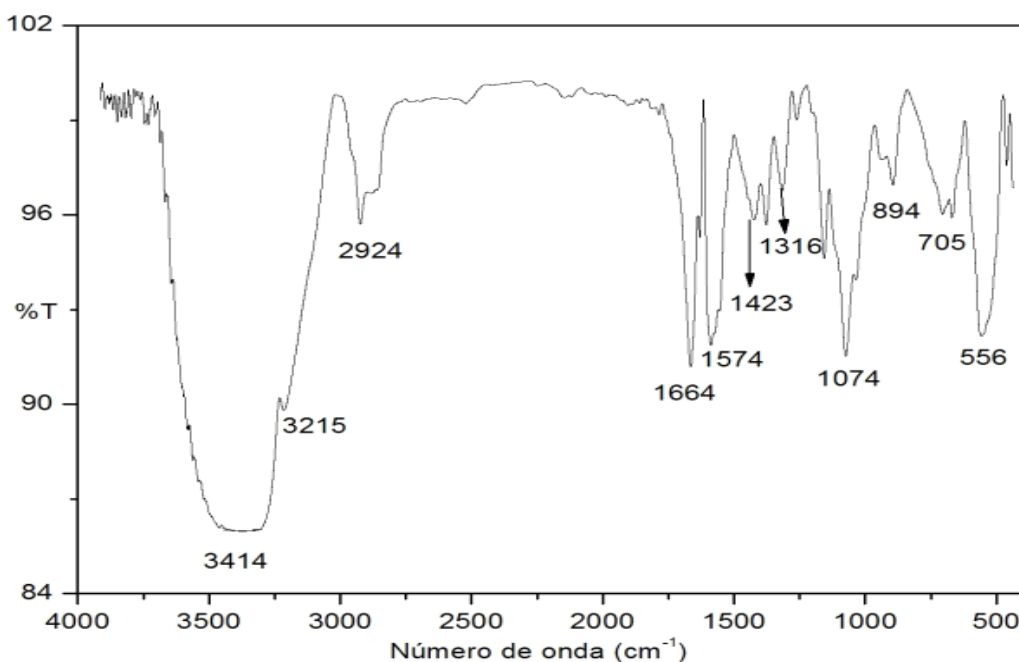


Figura 1a. Espectro FTIR del quitosano obtenido.

En el espectro de RMN para el quitosano se evidencia un singlete a 2,1 ppm, correspondiente a los protones del grupo acetamido (a), la señal para el H-2 de la fracción de D-Glucosamina aparece en 3,5 ppm (b), entre 3,7-4,0 ppm se observa un multiplete, correspondiente a los protones H3-H6 para las fracciones de D-glucosamina y N-Acetil glucosamina (c). En 4,3 ppm aparece un singlete, correspondiente al protón del grupo acetamido (d) y a 4,5 ppm aparece un doblete por los hidrógenos del grupo amino (e). No se observan los protones de los grupos hidroxilos, ya que probablemente aparezcan a campo bajo debido a la electronegatividad del átomo de oxígeno. La señal correspondiente al CDCl<sub>3</sub> aparece a 7,2 ppm, y las señales del ácido fórmico (H-COOH) aparecen a campo bajo como singletes, a 8 ppm (H-C) y 10 ppm (-COOH). El espectro de RMN se observa en la Figura 1b.

**3.2.2. Análisis viscosimétrico y peso molecular.** Las medidas viscosimétricas se realizaron en un viscosímetro capilar tipo *Ubbelholde* 0B-NO 206 a una temperatura de 25°C, utilizando CH<sub>3</sub>COOH 0,1 M como disolvente para las muestras de quitosano, preparadas a partir de una solución madre de 0,02 g/mL. Una vez establecidas las condiciones de trabajo, se procedió a determinar el tiempo de caída para cada solución, finalmente se procede a hallar la viscosidad de cada solución.



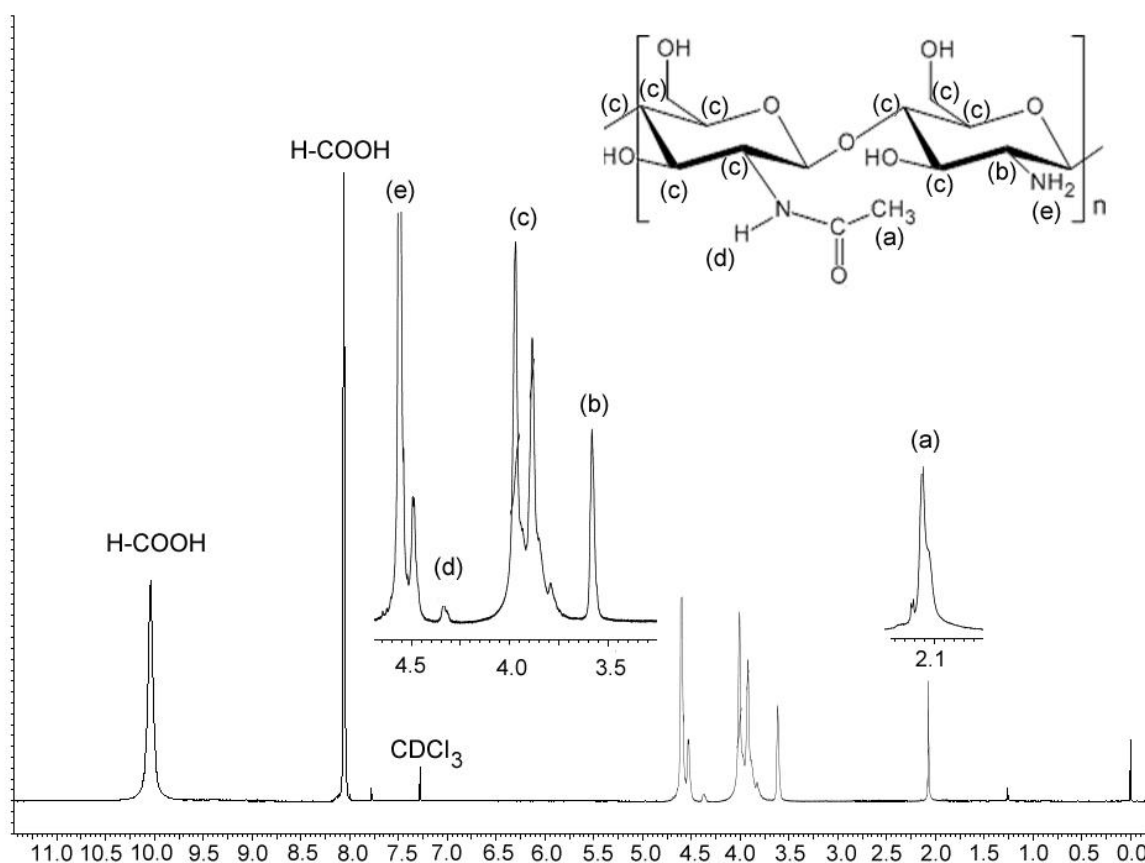


Figura 1b. Espectro de resonancia magnética nuclear del quitosano.

La representación de la viscosidad reducida en función de la concentración para el quitosano obtenido se indica en la siguiente ecuación

$$\frac{\eta_{sp}}{\rho_b} = 432,46 + 52.568,53\rho_b \quad (1)$$

La ordenada en el origen (432,46 mL/g) equivale a la viscosidad intrínseca  $[\eta]$ , y el coeficiente de correlación de la recta es 0,99181. Por medio de la viscosidad intrínseca se puede conocer el peso molecular promedio viscosimétrico ( $M_v$ ) utilizando la ecuación de *Mark Houwink Sakurada*

$$\eta = K \left( \frac{M_v}{M_0} \right)^a \quad (2)$$

Para el sistema quitosano-CH<sub>3</sub>COOH 0,1 M, las constantes de la ecuación (2) valen:  $K = 1,81 \cdot 10^{-3}$  y  $a = 0,93$  [16]. Despejando  $M_v$ , el peso molecular promedio viscoso del quitosano resulta ser:

$$\bar{M}_v = \left( \frac{432,46}{1,81 \cdot 10^{-3}} \right)^{1/0,93} = 6,06 \cdot 10^5 \text{ g/mol} \quad (3)$$

El valor de  $\bar{M}_v$  indica que el quitosano es de peso molecular promedio viscoso medio, reflejando que las condiciones de reacción durante la extracción del polímero son las adecuadas, lo cual se corrobora mediante los resultados obtenidos para el grado de desacetilación.

**3.2.3. Determinación del grado de desacetilación.** Empleando la ecuación (4) [17] se puede conocer el grado de desacetilación mediante análisis elemental

$$\% DD = 100 - \left( \frac{C/N - 5,145}{6,861 - 5,145} \right) 100 \quad (4)$$

En la ecuación (4), la razón C/N corresponde a la relación de los porcentajes de carbono y nitrógeno del quitosano obtenido. Para la muestra 1 de quitosano los porcentajes de C, H y N son de 37,72, 7,03 y 6,81%; y en la muestra 2 los porcentajes de C, H y N corresponden a 37,07, 7,12 y 6,75%. Aplicando la ecuación (4) se tiene que el porcentaje de DD para la muestra 1 es del 77,04 y del 79,78% para la muestra 2. La relación empleada es útil para la determinación del porcentaje de DD debido a que experimentalmente se ha demostrado que para el quitosano la fracción C/N se encuentra en el intervalo de 5,145 a 6,861.

Por otra parte, el contenido de grupos amino en el quitosano obtenido se determina según el método de titulación empleado por *Parada et al.* [8]. El método potenciométrico consiste en disolver el polímero en HCl diluido y se valora la mezcla con NaOH 0,1 M. Los resultados de la valoración se representan por una curva de titulación que posee dos puntos de inflexión, cuyos valores se obtuvieron según el criterio de la primera derivada (dpH/dV), al final de la titulación se observa que a un pH muy básico (superior a 9) el quitosano precipita, debido a que el polímero es insoluble en este medio [18].

La diferencia entre los puntos de inflexión de la curva de titulación ( $V_2 - V_1$ ) corresponde a la cantidad de ácido necesario para protonar los grupos amino del quitosano. Con base en lo anterior, la ecuación (5) [8] permite conocer el grado de desacetilación:

$$\% DD = 100 - 16,1 \frac{V_2 - V_1 M}{w} \quad (5)$$

En esta ecuación,  $V_2$  es el punto de inflexión mayor,  $V_1$  corresponde al punto de inflexión menor, expresados como volúmenes de NaOH, M es la molaridad de la solución de NaOH (mol/L), w es el peso del quitosano empleado (expresado en g) y 16,1 es un valor relacionado al peso del grupo amino ( $-NH_2$ ).



El análisis se realizó por duplicado, para la primera valoración la diferencia de volúmenes ( $V_2-V_1$ ) corresponde a 7 mL de NaOH, y 6 mL para la segunda valoración. Aplicando la ecuación (7), el grado de desacetilación de la primera muestra es del 77,46 y del 80,68% para la segunda valoración.

La determinación del grado de desacetilación por los métodos (potenciométrico y analizador elemental) indica que dicho parámetro se encuentra en el intervalo experimental (70 a 90%) de acuerdo con lo reportado por Araki et al. [19]

### 3.3. Bioadsorción de metales.

**3.3.1. Tipos de isothermas.** En una isoterma, el proceso de adsorción a temperatura constante se da entre dos especies de la siguiente manera: la especie adsorbida es el adsorbato, y la especie que adsorbe es el adsorbente. Dependiendo del tipo de interacción existente entre ambas puede ocurrir una adsorción química, tipo I (ver Figura 2a), con formación de un enlace químico entre las especies mencionadas, con existencia de una barrera energética ( $Q_{max}$  o  $Q_m$ ) en donde la adsorción se limita hacia una única capa de adsorbente; mientras que en una adsorción química y física, tipo II (ver Figura 2b), se da la adsorción química sobre la primera capa de adsorbente, mientras que las capas adicionales exhiben adsorción física con interacciones de tipo *van der Waals* sin presentar una barrera energética [20].

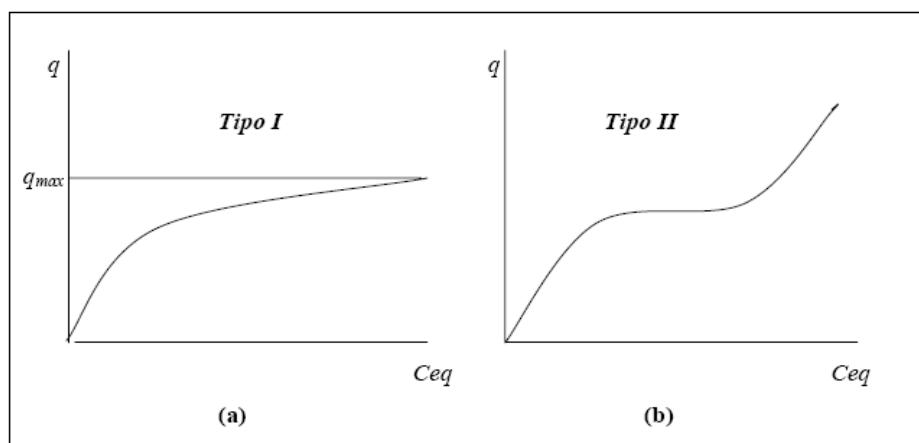


Figura 2. Tipos de isothermas de adsorción. (a): Adsorción química, y (b) adsorción física y química.

**3.3.2. Isothermas de adsorción de los metales sobre quitosano.** Para determinar la adsorción de los metales Cu, Pb y Ni sobre la superficie de quitosano se halla la cantidad de ión metálico adsorbido ( $Q_e$ ) sobre la superficie del polímero, expresada en miligramos (mg) de adsorbato por gramo (g) de adsorbente. Este parámetro puede conocerse por medio de la ecuación (6) [11]

$$Q_e = \left( \frac{C_i - C_{eq}}{W} \right) V \quad (6)$$

donde  $C_i$  es la concentración inicial de los iones metálicos y  $C_{eq}$  es la concentración del ion metálico en equilibrio (ambas en mg/L),  $W$  es el peso del quitosano empleado (g) y  $V$  es el volumen de solución (L). La representación de  $Q_e$  en función de  $C_{eq}$  para cada una de las isotermas de los metales se presenta en la Figura 3.

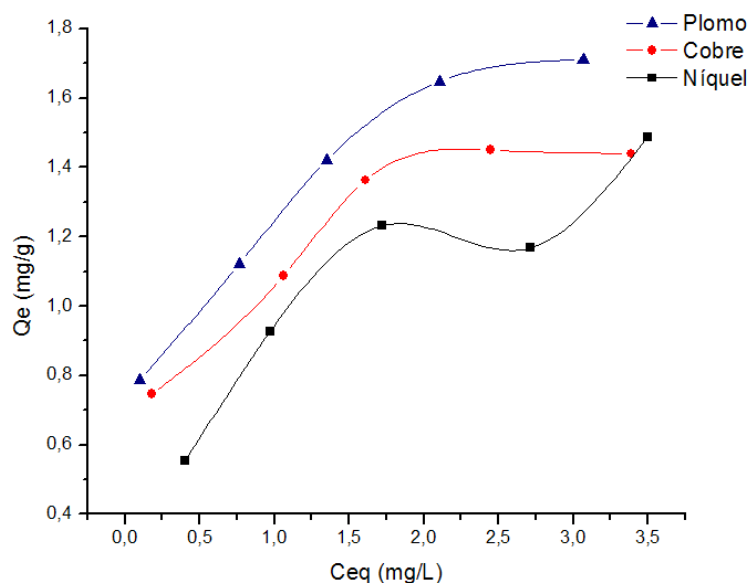


Figura 3. Isotermas de adsorción de cobre, níquel y plomo sobre quitosano. Tiempo de adsorción: 3 horas, temperatura: 25°C, pH = 4, agitación: 250 rpm

Las isotermas de la figura 3 indican que la interacción entre los adsorbatos (iones metálicos) y el adsorbente (quitosano) es de tipo químico con isotermas tipo I en el caso del cobre y el plomo, mientras que para el níquel se presenta una isoterma tipo II con adsorción química y física a la vez.

**3.3.3. Elección de un modelo cinético.** Se emplearon los modelos de *Langmuir* y de *Freudlinch* para ajustar el tipo de adsorción que el quitosano obtenido presenta sobre los iones metálicos.

El modelo de *Langmuir* [21] asume que la adsorción ocurre únicamente en una monocapa, con una superficie uniforme, homogéneamente estructural y que puede ocurrir en un número fijo de sitios localizados del adsorbente, con todos los puntos de adsorción idéntica y energéticamente equivalentes. Este modelo se describe por medio de la ecuación (7)

$$\frac{C_{eq}}{Q_e} = \frac{C_{eq}}{Q_m} + \frac{1}{K_L Q_m} \quad (9)$$

donde  $C_{eq}$  es la concentración del adsorbato en el equilibrio (en mg/L) y  $Q_e$  es la capacidad de adsorción de adsorbato por el adsorbente en el equilibrio (en mg/g). De la representación de  $C_{eq}/Q_e$  en función de  $C_{eq}$  se obtiene una línea recta con pendiente  $1/Q_m$  y ordenada en el origen igual a  $1/K_L Q_m$ . La constante  $Q_m$  se relaciona a la capacidad máxima de adsorción (en mg/g) y  $K_L$  se relaciona con la energía de adsorción. Por otra parte, el modelo de *Freundlich* [21] se refiere a la adsorción en múltiples sitios indistintamente de su distribución para superficies heterogéneas y sin presentar una barrera energética. Este modelo es empleado para corregir los defectos de la isoterma de *Langmuir*, en particular para determinadas regiones de concentración. La isoterma de *Freundlich* se ve representada por la ecuación (8):

$$\ln Q_e = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_{eq} \quad (8)$$

donde  $K_F$  se refiere a la capacidad de adsorción y  $n$  se refiere a la intensidad de adsorción, estas son constantes características del sistema adsorbente/adsorbato, y son determinadas de la representación de  $\ln Q_e$  en función de  $\ln C_{eq}$ , por tanto, se tiene entonces que la pendiente es  $1/n$ , y la ordenada en el origen es  $\ln K_F$ . Las Figuras 4a y 4b muestran las isotermas de *Langmuir* y de *Freundlich* aplicadas a los metales estudiados.

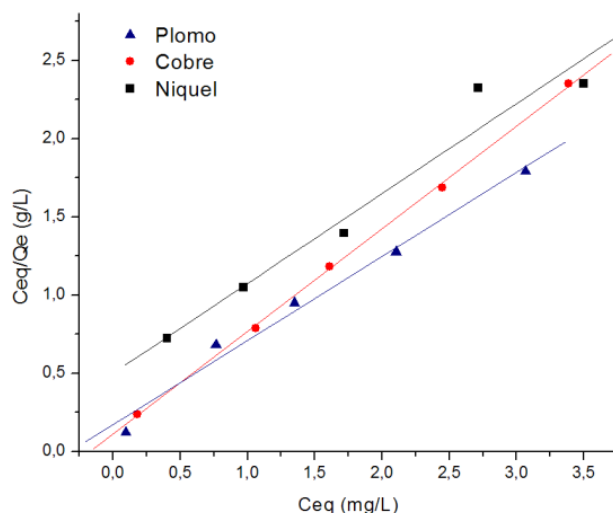


Figura 4a. Isotermas de *Langmuir* para la adsorción de cobre, níquel y plomo sobre quitosano. Tiempo de contacto: 3 horas, pH 4,0, agitación 250 rpm.

Como las isotermas de la Figura 3 describen curvas que tienden hacia un límite máximo de adsorción ( $Q_m$ ) de los metales sobre la superficie del polímero, el modelo que más se ajusta es el de *Langmuir* en el caso del cobre y plomo, ya que este modelo permite conocer la capacidad máxima de adsorción para cada metal cuando se han ocupado todos los sitios de adsorción disponibles, además los valores de  $R^2$  obtenidos para esta representación indican una mejor linealidad (0,99)

respecto de los valores  $R^2$  ofrecidos por *Freudlinch* (del orden de 0,96-0,98).

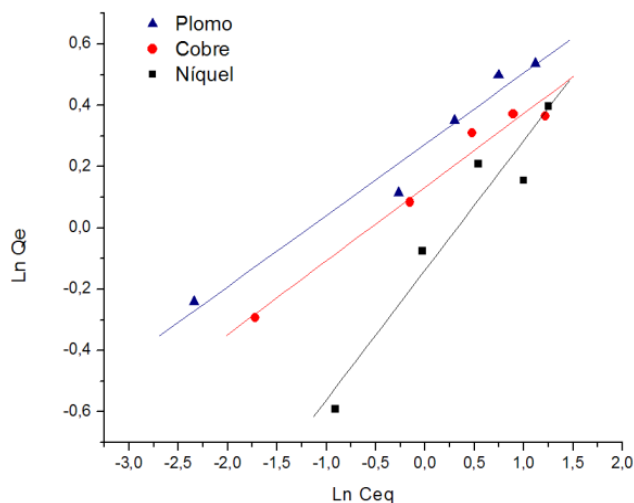


Figura 4b. Isotermas de *Freudlinch* para la adsorción de cobre, níquel y plomo sobre quitosano. Tiempo de contacto: 3 horas, pH 4,0, agitación 250 rpm.

Tabla 1. Parámetros obtenidos de las isotermas de *Langmuir* y *Freudlinch* para la adsorción de metales cobre, níquel y plomo sobre quitosano.

| Metales                        | $Q_m$ (mg/g) | $K_L$ (L/mg) | $R^2$   | pH  |
|--------------------------------|--------------|--------------|---------|-----|
| <i>Isoterma de Langmuir</i>    |              |              |         |     |
| $Cu^{+2}$                      | 1,5230       | 5,9926       | 0,99965 | 4,0 |
| $Ni^{+2}$                      | 1,7416       | 1,1461       | 0,97630 | 4,0 |
| $Pb^{+2}$                      | 1,8582       | 3,1623       | 0,99228 | 4,0 |
| <i>Isoterma de Freundlinch</i> |              |              |         |     |
| Metales                        | $n$          | $K_L$ (L/mg) | $R^2$   | pH  |
| $Cu^{+2}$                      | 4,1642       | 1,1422       | 0,98661 | 4,0 |
| $Ni^{+2}$                      | 2,3643       | 0,8711       | 0,96429 | 4,0 |
| $Pb^{+2}$                      | 4,3031       | 1,3140       | 0,98404 | 4,0 |

En el modelo de *Langmuir*, la energía de adsorción,  $K_L$ , es mayor para el cobre (5,9926 L/mg), seguida por el plomo (3,1623 L/mg) y finalmente por el níquel (1,1461 L/mg), indicando que la adsorción se da con mayor facilidad con el cobre en relación a los otros metales, existiendo en este metal una mejor selectividad.

Con respecto al níquel, este es el único metal que particularmente sigue al modelo de *Freudlinch*, debido a que no presenta una barrera energética bien definida, exhibiendo una isoterma

tipo II según lo observado en las Figuras 2a y 3.

Es de resaltar que al aplicar el modelo cinético de *Freudlinch*, se pudieron determinar los parámetros relacionados a la capacidad de adsorción del adsorbente ( $K_F$ ) sobre los iones metálicos, en donde se encontró que la mejor  $K_F$  es presentada por el plomo, siendo de 1,3140 L/g, seguida del cobre, siendo de 1,1422 L/g y para el níquel es la menor, con un valor igual a 0,8711 L/g.

**3.3.4. Eficacia de adsorción de los metales sobre la superficie del polímero.** De la Tabla 1 se puede observar que el quitosano como adsorbente exhibe diferentes capacidades de adsorción ( $Q_m$ ), de acuerdo al metal y en el instante en que la monocapa del polímero se ha llenado por completo, en el caso del plomo  $Q_m$  aparece a 1,8585 mg/g, seguido por el níquel, 1,7416 mg/g y finalmente para el cobre, 1,5230 mg/g, esto puede deberse a la naturaleza química propia de cada metal y a la manera en que cada uno de ellos se adsorbe sobre el quitosano.

En el quitosano, el grupo amino ( $-NH_2$ ) comparte un par de electrones del átomo de N con los iones metálicos ( $Cu^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$  y  $Pb^{+2}$ ) que son adsorbidos, formando complejos tipo M-L (metal ligando), esto se debe a que existe una coordinación entre los metales y el quitosano. Sin embargo, la unión del quitosano a los iones de metales no indica una estequiometría bien definida [22], debido a que hay múltiples sitios activos de adsorción y de unión sobre la superficie del polímero, ejemplos podrían ser los grupos  $-OH$ , el  $-NH$  del grupo acetamido y los enlaces *O*-glucosídicos del polímero, por ser estos grupos funcionales que poseen pares de electrones libres.

Los complejos de los metales con quitosano poseen cierta estabilidad, que se podría estimar según la teoría de ácidos y bases de *Pearson et al.* [23], en donde se señala que la interacción duro-duro o blando-blando conduce a compuestos más estables, porque el solapamiento de orbitales sería mayor y el enlace sería más fuerte. En el caso del  $Cu^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$  y  $Pb^{+2}$ , estos corresponden a ácidos con carácter duro intermedio, mientras que el grupo amino es una base dura, esto indica que los complejos formados son relativamente estables.

Las condiciones de trabajo requerían de un pH ácido para facilitar la conversión del quitosano a polielectrolito y hacerlo más soluble, por esa razón, y con base al estudio de *Paulino et al.* [11] se eligió pH = 4,0. El polímero, al ser un compuesto soluble, aseguraba la formación de los complejos organometálicos, tal como se observó luego de medir las absorbancias iniciales de las soluciones de metales y observar la disminución de este parámetro tras la adición del polímero. Finalmente se tiene que el tiempo y la velocidad de agitación (3 horas, 250 rpm) permiten que las moléculas del quitosano establezcan un contacto a manera de barrido ante las soluciones de iones metálicos empleados, permitiendo la adherencia sobre la superficie del polímero.

### 3.4. Tratamiento de aguas.

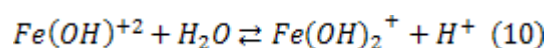
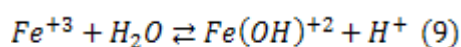
**3.4.1. Determinación de la dosis óptima del coagulante primario.** Se eligió cloruro férrico

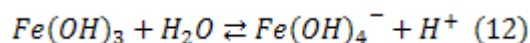
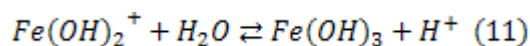
como agente de coagulación y floculación, puesto que el rango de trabajo del pH es óptimo para realizar el tratamiento (5,5-8,5), sin que modifique demasiado el pH natural de la muestra de agua (7,5) [24] frente a otros coagulantes metálicos, como el sulfato de aluminio, cuyo rango de pH oscila entre (7,7-9,0) [25]. En las pruebas de coagulación y floculación desarrolladas se aplicaron los criterios establecidos por la norma ASTM D2035-08 [26] (relacionada al tratamiento de aguas), y con base en ella se eligieron los gradientes de mezcla rápida y lenta de los experimentos.

Durante el gradiente de mezcla rápida (360 rpm, 1 minuto), el  $\text{FeCl}_3$  se distribuye uniformemente luego de adicionarse a la muestra de agua, ocurriendo el fenómeno de coagulación, que es la interacción del agente coagulante primario con las partículas presentes en el agua, mediante choques electrostáticos, que neutralizan la carga negativa que las rodea (esta es debida a la presencia de ácidos húmicos y fúlvicos principalmente) [27]. Las partículas se unen entre sí mediante fuerzas de *van der Waals* y de *London* formando coágulos pequeños. En la fase de agitación lenta (60 rpm, 20 min) ocurre el proceso de floculación, aquí los coágulos pequeños se aglomeran entre sí mediante colisiones, generando microflóculos, que se unen a otros microflóculos, formando flóculos grandes, debido a la acción del hierro (III) generando un barrido en toda la muestra de agua, para finalmente precipitarlos; las impurezas remanentes sedimentan mediante el efecto de la gravedad.

Analizando los parámetros de la muestra de agua tratada, se observa que la turbidez inicial (3,39 NTU) se reduce luego del tratamiento en cada uno de los recipientes, exhibiendo el valor más bajo (0,41 NTU) cuando la dosis de  $\text{FeCl}_3$  adicionada fue de 20 ppm, por ello se elige esta concentración como la dosis óptima.

Las variables restantes (pH, materia orgánica, y carbono orgánico total) fueron estudiadas en torno a la dosis óptima elegida. En el caso de la materia orgánica (relacionada al contenido de ácidos fúlvicos y húmicos, expresada como absorbancia a 256 nm) se presenta una reducción del 92,18%, mientras que el carbono orgánico total (referido al carbono de toda la materia orgánica) se reduce en un 31,84%. En el caso del pH inicial del agua (7,25), este disminuye de manera lenta, luego de tratada el agua alcanza el valor de 7,08, esto se puede explicar, puesto que tras la adición de  $\text{FeCl}_3$  se forman especies hidróxidas inestables, liberando iones  $\text{H}^+$  según se describe en el equilibrio siguiente, denotado por las ecuaciones (9) a (12) [14]





**3.4.2. Quitosano como ayudante de coagulación y de floculación en el tratamiento de aguas del río Meléndez.** Para la evaluación del quitosano se hicieron dos estudios, empleando el polímero como ayudante de coagulación y de floculación, utilizando la dosis óptima de cloruro férrico. El quitosano utilizado como ayudante de coagulación se une inicialmente a los sitios activos de las partículas coloidales mediante choques, mientras que el FeCl<sub>3</sub> es adicionado 15 segundos antes de completar un minuto de mezcla rápida (360 rpm, 1 minuto), sin embargo, el quitosano ya ha interactuado, puesto que neutralizó las cargas de los coloides presentes, formando coágulos [28]. Los coloides restantes que no interactuaron con el polímero fueron adsorbidos por el cloruro férrico, formando más coágulos pequeños. Durante la fase de agitación lenta (60 rpm, 20 minutos), los coágulos se unen entre sí formando microflóculos, luego pasan a formar flóculos grandes, y finalmente es el cloruro férrico quien realiza el barrido de las partículas en el agua y favorece su sedimentación. Los resultados de este experimento se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Datos de turbidez encontrados para el quitosano como ayudante de coagulación

| <i>Ayudante de Coagulación</i> |          |          |          |          |          |          |                |
|--------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------------|
| <i>Muestra</i>                 | <b>1</b> | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> | <b>5</b> | <b>6</b> | <i>Control</i> |
| <b>Conc. quitosano (ppm)</b>   | 0,1      | 1        | 2        | 5        | 7        | 10       | -              |
| <b>Turbidez (NTU)</b>          | 2,57     | 7,35     | 9,11     | 4,46     | 3,97     | 3,76     | 1,78           |

De los datos de la Tabla 2, se puede observar que la menor turbidez se presenta cuando la dosis de quitosano adicionada a la muestra de agua es de 0,1 ppm, siendo de 2,57 NTU, sin embargo ese dato excede la turbidez del agua cruda (1,78 NTU), la explicación a este incremento se debe a que el polímero al adicionarse primero que el coagulante primario, neutralizo todas las cargas presentes en la partículas de la materia disuelta, pero al adicionar el FeCl<sub>3</sub>, estas partículas dispersaron la luz al no poder adicionarse a la materia orgánica disuelta y sedimentar, sino que dispersaron la luz al momento de medir la turbidez.

Si el quitosano es utilizado como ayudante de floculación, es el cloruro férrico quien se adhiere directamente a las partículas, ocupando los sitios de adsorción disponibles, desestabilizando los coloides, neutralizando sus cargas y formando los primeros coágulos, además el polímero fue



adicionado 15 segundos antes de completar un minuto de mezcla rápida (360 rpm, 1 minuto). Se establece entonces que durante el gradiente de mezcla lenta (60 rpm, 20 minutos), y tras la adición del cloruro férrico, se forman los microfloculos. La acción que desempeña el quitosano es la de reforzar las uniones existentes entre los microfloculos formados, generando floculos grandes, que en última instancia se adhieren al polímero [29]. Una vez mas es el cloruro férrico quien realiza el barrido final de las partículas, sedimentándolas mediante el efecto de la gravedad. El resultado de esta prueba se presenta en la Tabla 3.

Tabla 3. Datos de turbidez encontrados para el quitosano como ayudante de floculación.

| <i>Ayudante de Floculación</i> |          |          |          |          |          |          |                |
|--------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------------|
| <i>Muestra</i>                 | <i>1</i> | <i>2</i> | <i>3</i> | <i>4</i> | <i>5</i> | <i>6</i> | <i>Control</i> |
| <i>Conc. Quitosano (ppm)</i>   | 0,1      | 1        | 2        | 5        | 7        | 10       | -              |
| <i>Turbidez (NTU)</i>          | 0,735    | 0,853    | 1,090    | 1,170    | 1,900    | 1,950    | 1,300          |

De la Tabla 3 se observa que la menor turbidez (0,735 NTU) se presenta si la dosis de quitosano empleado es de 0,1 ppm, no obstante, la dosis de 1 ppm del polímero también exhibe un bajo valor respecto al dato de la turbidez inicial. Sin embargo, la norma ASTM D2035-08, indica que se prefiere el valor más bajo de turbidez encontrado luego de realizada la prueba. La representación de los datos de las Tablas 2 y 3 se muestra en la Figura 5.

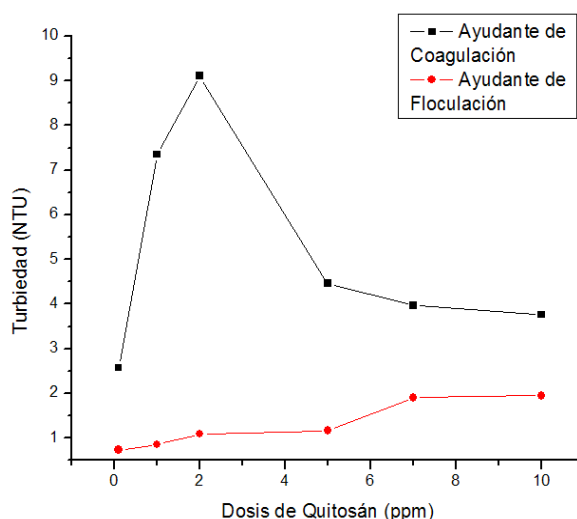


Figura 5. Efecto de la dosis de quitosano como ayudante de coagulación y de floculación sobre la turbidez.

En general, se puede observar que los datos de turbidez obtenidos para el quitosano como

ayudante de floculación son notablemente menores en relación a los obtenidos como ayudante de coagulación, esto se atribuyó a que el polímero al ser empleado como ayudante de coagulación, no permitió que el cloruro férrico se adhiriera a las partículas durante el barrido inicial ocurrido durante el periodo de mezcla rápida, quedando partículas de impurezas presentes en el agua luego de realizado el tratamiento, y al estar dispersas en el agua tratada, aquellas partículas dispersaron la luz incidente sobre ellas, exhibiendo los altos valores de turbidez.

De los resultados obtenidos para los ensayos de coagulación y floculación de impurezas sobre muestras de agua, se determina que la dosis óptima de quitosano es 0,1 ppm, puesto que a esta dosis se exhiben las menores turbideces. Con base en este dato se estudió la posibilidad de reducir la dosis óptima del cloruro férrico hasta en un 50% de su valor original, ciñéndose a las mismas condiciones de los ensayos anteriores. La adición del polímero se realiza antes del coagulante primario ( $\text{FeCl}_3$ ) si se trata de coagulación y después si se refiere a floculación. Los resultados de estas pruebas adicionales se muestran en las Tablas 4 y 5.

Tabla 4. Datos de turbidez como ayudante de coagulación ante la reducción de la dosis óptima de  $\text{FeCl}_3$ .

| <i>Ayudante de Coagulación</i>                     |          |          |          |          |          |          |                |
|--|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------------|
| <i>Muestra</i>                                     | <i>1</i> | <i>2</i> | <i>3</i> | <i>4</i> | <i>5</i> | <i>6</i> | <i>Control</i> |
| <i>%Reducción dosis <math>\text{FeCl}_3</math></i> | 50       | 40       | 30       | 20       | 10       | 0        | -              |
| <i>Turbidez (NTU)</i>                              | 10,9     | 9,04     | 2,71     | 1,14     | 0,96     | 0,82     | 9,21           |

Tabla 5. Datos de turbidez como ayudante de floculación ante la reducción de la dosis óptima de  $\text{FeCl}_3$ .

| <i>Ayudante de Floculación</i>                     |          |          |          |          |          |          |                |
|--|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------------|
| <i>Muestra</i>                                     | <i>1</i> | <i>2</i> | <i>3</i> | <i>4</i> | <i>5</i> | <i>6</i> | <i>Control</i> |
| <i>%Reducción dosis <math>\text{FeCl}_3</math></i> | 50       | 40       | 30       | 20       | 10       | 0        | -              |
| <i>Turbidez (NTU)</i>                              | 3,40     | 6,39     | 3,93     | 3,55     | 3,50     | 3,33     | 6,00           |

La representación de los resultados de las Tablas 4 y 5 se presenta en la Figura 6. En la Figura 6, se puede observar que los datos de turbidez más bajos se presentan empleando quitosano como ayudante de coagulación si las dosis de cloruro férrico se reducen entre un 10-30% de la dosis óptima original, sin embargo, la tendencia no se conserva, puesto que la reducción de la dosis de cloruro férrico al 40 y 50% exhibe las mayores turbideces (9,04 y 10,9 NTU), excediendo el dato de

turbidez de la muestra de agua no tratada (9,21 NTU). La tendencia de la gráfica de coagulación (línea unida por cuadros negros) se puede establecer de la siguiente manera: entre mayor sea el porcentaje de reducción de la dosis óptima de cloruro férrico utilizando quitosano como ayudante de coagulación, el efecto sobre la turbidez será menor hasta el límite donde el sistema colapsa y el valor de la turbidez se dispara.

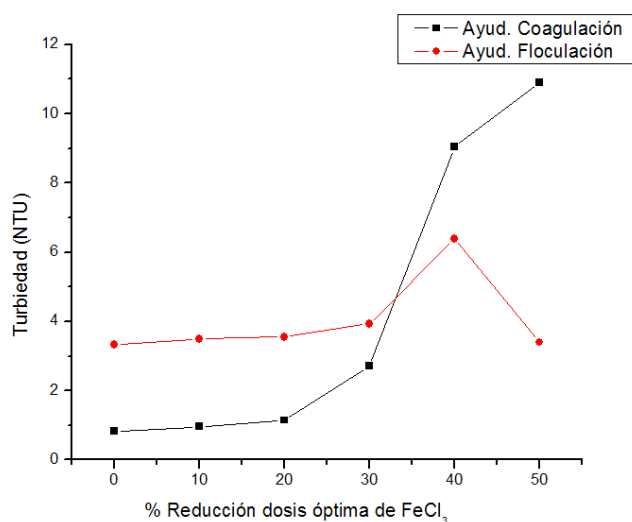


Figura 6. Reducción de la dosis óptima de FeCl<sub>3</sub> empleando quitosano como ayudante de coagulación y de floculación sobre la turbidez

Si se emplea el polímero como ayudante de floculación, la reducción de la dosis óptima entre un 10-30% exhibe datos de turbidez casi constantes, si la reducción continúa hasta el 40% se observa un aumento de la turbidez (6,39 NTU) y si continúa hasta un 50%, se exhibe la turbidez más baja del sistema (3,40 NTU), comparada con el dato inicial de turbidez para el agua cruda (6,00 NTU). La tendencia de la representación de floculación (línea roja unida por puntos) indica que cada vez que se incremente el porcentaje de reducción de dosis óptima de FeCl<sub>3</sub> el efecto sobre la turbidez será gradual y constante, hasta llegar a un mínimo valor. Entonces, es posible reducir la dosis óptima original de cloruro férrico hasta en un 50% sin afectar demasiado el resultado original, utilizando la mínima cantidad de FeCl<sub>3</sub>.

#### 4. CONCLUSIONES

Se logró extraer quitosano del micelio de *Aspergillus Niger*, con un rendimiento del 1,07%, según las condiciones de reacción empleadas. El polímero se identificó mediante espectroscopia infrarroja y análisis elemental.

El grado de desacetilación se determinó por dos métodos: análisis elemental y valoración potenciométrica, en donde los valores obtenidos se encuentran en el rango entre 70-90%, es decir,

con un alto grado de desacetilación. Con ayuda de la viscosimetría capilar se estableció el peso molecular promedio en viscosidad ( $M_V$ ) aproximado de  $6.10^5$  g/mol, indicando que se trata de un polímero de peso molecular mediano.

Los iones metálicos cobre y plomo empleados en este estudio exhiben isoterma de adsorción química (tipo I) en monocapa sobre la superficie del quitosano, y se ajustan mejor al modelo de *Langmuir*, mientras que el níquel exhibe isoterma tipo II, con tendencia a la adsorción química y física, siguiendo la representación de *Freundlich*. Entre los dos modelos cinéticos propuestos, el modelo de *Langmuir* se ajusta mejor, dado que sus valores de  $R^2$  son del orden de 0,99, a diferencia de los valores  $R^2$  presentados por *Freundlich*. La capacidad máxima de adsorción ( $Q_m$ ) de cada uno de los metales, fue de 1,5230 para el cobre, 1,7416 para el níquel y 1,8582 para el plomo.

El metal que presenta una mejor adsorción sobre el quitosano según el modelo de *Langmuir* es el cobre, con una energía de adsorción ( $K_L$ ) de 5,9926 L/mg, mientras que el níquel presenta la menor  $K_L$ , siendo de 1,1461 L/mg.

En las pruebas de Jarras realizadas a las muestras de agua del río *Meléndez*, se comprobó que al utilizar quitosano, este actúa mejor como ayudante de floculación, dado que los parámetros estudiados exhiben las mejores reducciones. Además, se determinó que al emplear el polímero, la dosis óptima del coagulante primario ( $FeCl_3$ ) puede ser reducida hasta en un 50% de su valor original, permitiendo un ahorro en el uso del coagulante, sin alterar las condiciones de trabajo de la norma ASTM D2035-08 para tratamiento de aguas, utilizando una mínima cantidad de  $FeCl_3$ .

Las muestras de agua tratada del río *Meléndez* cumplen con los parámetros exigidos por la norma técnica colombiana, aun sin aplicar los procesos posteriores en la purificación del agua (tratamiento biológico y desinfección)

**Agradecimientos.** Los autores agradecen en primer lugar a la *Universidad del Valle*, al centro de excelencia en nuevos materiales (CENM) por la realización y el apoyo financiero de esta investigación, a los grupos de investigación de productos naturales (GIPNA) y de investigación de Química analítica (GAOX) del profesor *Norberto Benítez* por la ayuda suministrada, a los analistas *Luis Hurtado* y *Carlos Rodríguez* de la *Universidad del Valle* por la toma oportuna de los espectros de las muestras, a *Yiminzon Palomeque*, por la ayuda suministrada en la operación del equipo de Absorción atómica, y al profesor *Héctor Mario Gutiérrez* de la escuela de ingeniería sanitaria de la *Universidad del Valle* por su colaboración con el uso del turbidímetro.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Miretzky P, Cirelli F, *J. Hazard. Mat.*, **10**, 134 (2009)
- [2] Rinaudo M, *Prog. Polym. Sci.*, **31**, 603 (2006)
- [3] Muzzarelli R, White T, *Adv. Polym. Sci.*, **186**, 151 (1978)
- [4] Watanabe K, Miyoshi H, Shimura K, Onodera K, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**,1901 (1998)
- [5] Cundumí N “*Diseño del proceso de obtención de Quitosano a partir del Micelio de Aspergillus Niger, subproducto en la industria del ácido cítrico*”. Trabajo de Grado. Cali, Colombia. Universidad del Valle, 1994
- [6] Cai J, Yang J, Du Y, Fan L, Qiu Y, *Carbohydr. Polym.*, **64**, 152 (2006)
- [7] Norma ASTM D446-97, *Standard Specifications and Operating Instructions for Glass Capillary*

- Kinematic Viscometers*, American Society for Testing and Materials, 1997
- [8] Parada L, Crespín G, Miranda R, Katime I, *Rev. Iberoam. Polímeros*, **5**, 7 (2004)
- [9] Shetty A, *Biomacromol.*, **3**, 579 (2002)
- [10] Colorado B, Restrepo E, *J. Rev. Prod. Nat.*, **3**, 20 (2009)
- [11] Paulino A, Santos L, Nozaki J, *J. React. Func. Polym.*, **68**, 637 (2008)
- [12] Benavente M, Westergren R, Martínez A, *J. Rev. Lat. Quím.*, **57**, 62 (2007)
- [13] Hernández R “*Síntesis de copolímeros de ácido acrílico y acrilamida y su aplicación en purificación de aguas*”. Trabajo de grado. Cali, Colombia. Universidad del Valle, 2003
- [14] Alegría A “*Síntesis de copolímeros de acrilamida y ácido itacónico y su aplicación en purificación de aguas*”. Trabajo de grado. Cali, Colombia. Universidad del Valle, 2009
- [15] Kawamura M, Mitsuhashi H, Tanibe H, *Eng Chem. Res.*, **32**, 111 (1993)
- [16] Brandrup J, Immergut E “*Polymer Handbook*”. Wiley Interscience (1998)
- [17] Schlaak M, Becker T, *React. Func. Polym.*, **44**, 289 (2000)
- [18] Brugnerotto J, Lizardi K, Rinaudo M, *Polymer*, **42**, 3569 (2007)
- [19] Araki C, Nakajima T, Shimada A, *J. Jpn. Soc.*, **39**, 894 (1992)
- [20] Sengil, I, Ozacar M, Türkmenler H, *J. Hazard. Mater.*, **162**, 1046 (2009)
- [21] Li J, Meng X, Hu C, Du J, *Bioresour. Tech.*, **100**, 1169 (2009)
- [22] Guibal E, *Sep. Purif. Tech.*, **38**, 49 (2004)
- [23] Pearson, R, *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 3533 (1963)
- [24] Lofrano G, Rizo L, Grassi M, *Sep. Purif. Tech.* **63**, 649 (2008)
- [25] Rizzo L, Di Gennaro A, Belgiorno V, Gallo M, *Sep. Purif. Tech.*, **62**, 79 (2008)
- [26] Norma ASTM D2035-08, *Coagulation-Flocculation Jar Test of Water*, American Society for Testing and Materials, 2008
- [27] Zeng D, Wu J, Kennedy, *J. Carbohydr. Polym.*, **71**, 135 (2008)
- [28] Yagami L, Miao J, *Int. J. Appl. Chem.*, **34**, 127 (2002)
- [29] Roussy M, Van Vooren B, *Water Res.*, **39**, 3247 (2005)
- [30] Ministerio de Salud Pública. Normas técnicas de calidad del agua. Decreto No.475. Capítulo 3, Artículo 8. Criterios químicos de la calidad del agua. 2007